

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1961.

THÈSE

417

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

Juliette GARAT

née le 28 Juin 1920, à Paris

Présentée et soutenue publiquement le 24 Mai 1961

CONTRIBUTION DU LABORATOIRE
AU DIAGNOSTIC RAPIDE DES INTOXICATIONS
PAR LES POISONS ORGANIQUES

Président : M. R. PIEDELIÈVRE

IMPRIMERIE M. DECLUME
LONS-LE-SAUNIER

1961

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1961.

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

Juliette GARAT.

née le 28 Juin 1920, à Paris

Présentée et soutenue publiquement le 24 Mai 1961

CONTRIBUTION DU LABORATOIRE
AU DIAGNOSTIC RAPIDE DES INTOXICATIONS
PAR LES POISONS ORGANIQUES

Président : M. R. PIEDELIÈVRE

IMPRIMERIE M. DECLUME
LONS-LE-SAUNIER

1961



FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. AUBIN (A.), BÉNARD (H.), BULLIARD (H.), CADENAT (F.), CHABROL (E.), CHAMPY (C.), DEBRÉ (R.), GASTINEL (P.), GUILLAIN (G.), HALPHEN (E.), HAZARD (R.), HEUYER (G.), LANTUEJOUL (P.), LAROCHE (G.), LEVY-SOLAL (E.), LIAN (C.), LOEPER (M.), MARION (G.), MATHIEU (P.), MOCQUOT (P.), MONDOR (H.), MONOD (R.), MOREAU (R.), OLIVIER (E.), PASTEUR VALLERY-RADOT, PETIT-DUTAILLIS, RICHET (C.), STROHL (A.), TANON (L.).

DOYEN LÉON BINET, Membre de l'Institut.

ASSESSEUR JEAN VERNE.

I. — Professeurs.

MM.

Anatomie	DELMAS (A.)
Anatomie pathologique	DELARUE (J.)
Anesthésiologie	BAUMANN (J.)
Biochimie médicale	JAYLE (M. F.)
» » (Pr. à titre personnel)	ETTORI (J.)
» » (Pr. à titre personnel)	SCHAPIRA (G.)
Biologie appliquée à l'Education physique et aux sports.....	CHAILLEY-BERT (P.)
Biologie médicale	FAUVERT (R.)
» » (Pr. à titre personnel)	BOURLIÈRE (F.)
Cancérologie médicale et sociale	BERNARD (J.)
Clinique carcinologique chirurgicale (Necker)	REDON (H.)
Clinique cardiologique (Broussais)	MOUQUIN (M.)
	SICARD (A.)
	N.
	PATEL (J.)
Cliniques chirurgicales	CORDIER (G.)
	GOSSET (J.)
	MOULONGUET (P.)
	LORTAT-JACOB (J. L.)
	FÈVRE (M.)
Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enf. Mal.).....	MERLE D'AUBIGNÉ (R.)
Clinique chirurgicale orthopédique et réparatrice (Cochin)....	GAUDART-D'ALLAINES (F. de)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais)	MATHEY (J.)
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire (Laënnec)	DECOURT (J.)
Clinique endocrinologique (Pitié)	LAMY (M.)
Clinique de génétique médicale (Enfants-Malades)	FUNCK-BRENTANO (P.)
Clinique gynécologique (BROCA)	DEGOS (R.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (St Louis).....	CATHALA (J.)
Clinique des maladies des enfants (Enfants-Malades)	MOLLARET (P.)
Clinique des maladies infectieuses (Cl. Bernard)	DELAY (J.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Ste Anne)..	HAMBURGER (J.)
Clinique des maladies métaboliques (Necker)	MARCHAL (G.)
Clinique des maladies du sang (Broussais)	N.
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)	LENÈGRE (J.)
	Boucicaut
	Broussais
	Cochin
Cliniques médicales	Cochin
	Hôtel-Dieu
	Pitié
	St. Antoine
	SOULIE (P.)
	JUSTIN-BESANÇON (L.)
	BROUET (G.)
	BARIEY (M.)
	DREYFUS (G.)
	KOURILSKY (R.)

Clinique médicale d'hydrologie thérapeutique et climatologie (Bichat)	DEBRAY (C.)
Clinique médicale propédeutique (Broussais)	GENNES (L. de)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition (H. Dieu)	DEROT (M.)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié)	DAVID (M.)
Clinique neurologique (Salpêtrière)	GARCIN (R.)
Cliniques obstétricales	Baudelocque Foch (Suresnes)
Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal)	LACOMME (M.)
Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu)	MERGER (R.)
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière)	VARANGOT (J.)
Clinique de pédiatrie et de puériculture (St. Vinc. de Paul)....	RENARD (G.)
Clinique de pédiatrie Sociale (Enfants-Malades)	AUBRY (M.)
Clinique de pneumo-phtisiologie (Laënnec)	LELONG (M.)
Clinique psychiatrique infantile (Salpêtrière)	MARIE (J.)
Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)	BERNARD (E.)
Clinique stomatologique (Pitié)	MICHAUX (L.)
Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard)	COSTE (F.)
Clinique thérapeutique médicale (St Antoine)	DECHAUME (M.)
Clinique urologique (Cochin)	N.
Embryologie	LEMAIRE (A.)
» (Pr. à titre personnel)	N.
Histoire de la médecine et de la chirurgie (Lariboisière).....	GIROUD (A.)
Histologie	TUCHMANN-DUPLESSIS (H.)
Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau).....	SÈZE (S. de)
Hygiène et médecine préventive	VERNE (J.)
» » » (Pr. à titre personnel).....	TURPIN (R.)
Médecine du travail	JOANNON (P.)
Médecine Légale	DEPARIS (M.)
Microbiologie (Bactériologie et virologie)	DESOILLE (H.)
Parasitologie	PIEDELIEVRE (R.)
» (Pr. à titre personnel)	FASQUELLE (R.)
Pathologie chirurgicale	GALLIARD (H.)
» » (Pr. à titre personnel)	BRUMPT (L. G.)
Pathologie exotique	COUVELAIRE (R.)
Pathologie expérimentale et comparée	LAURENCE (G.)
Pathologie médicale	LAVIER (G.)
Pathologie respiratoire	MERKLEN (F. P.)
Pathologie et thérapeutique générales	MILLIEZ (P.)
Pharmacologie	TURIAF (F.)
» (Pr. à titre personnel)	BOUDIN (G.)
Physiologie	CHEYMOL (J.)
» (Pr. à titre personnel)	LÉVY (Mlle J.)
» (Pr. à titre personnel)	BINET (L.)
Physiologie et pathologie obstétricale	BARGETON (D.)
Physique médicale	PARROT (J.)
» » (Pr. à titre personnel)	LEPAGE (F.)
Radiologie médicale	DOGNON (A.)
Technique chirurgicale et chirurgie expérimentale.....	DJOURNO (A.)
Thérapeutique	DESGREZ (H.)
	LEGER (L.)
	CONTE (M.)

II. — Professeurs sans Chaire, Professeurs Agrégés et Maîtres de Conférences, Agrégés.

MM.		MM.	
Anatomie	{ CABROL (C.) COUINAUD (C.) OLIVIER (G.)	Ophtalmologie	{ BREGEAT (P.) SARAUX (H.)
Anatomie-pathologique	{ GAUTHIER-VILLARS (Mlle P.) pr. s. ch. BUSSER (F.) GOUYGOU (Ch.) ORCEL (L.) PAILLAS (J.)	Orthopédie	{ JUDET (R.) RAMADIER (J.)
Anesthésiologie	VOURC'H (G.)	Oto-Rhino-Laryngol.	DEBAIN (J.)
Bactériologie	{ BARBIER (P.) CHRISTOL (D.) TOURNIER (P.)	Parasitologie	CHABAUD (A.)
Biochimie médicale...	{ DESGREZ (P.) pr. s. ch. POLONOSKI (J.) m. conf.	Pathologie chirurgicale	{ BARCAT (J.) BINET (J. P.) CAUCHOIX (J.) CHATELIN (Cl.) DUBOST (Ch.) DUBOST (Cl.) FAUREL (J.) FLABEAU (F.) GERMAIN (A.) LOYGUE (J.) MERCADIER PERROTIN (J.) ROBERT (H.) THOMERET (G.)
Biologie appliquée à l'Éducation Physique et aux Sports ...	PLAS (F.)	Pathologie exotique..	SCHNEIDER (J.)
Carcinologie	{ DENOIX (P.) MATHÉ (G.)	Pathologie expériment.	{ CROSNIER (J.) HARTMANN (L.) LOEPER (J.) MAURICE (J.) RICHET (G.)
Dermato-Syphiligraph.	DUPERRAT (B.)		AUSSANNAIRE (M.)
Electro-radiologie	LEDoux-LEBARD (G.)		BOUR (H.)
Hématologie	{ BILSKI-PASQUIER (G.) DAUSSET (J.)		BOUVIER (J.)
Histologie	{ COUJARD (R.) pr. s. ch. MAROIS (M.) RACADOT (J.)		BOUVRAIN (Y.)
Hydrologie	CORNET (A.)		BRICAIRE (H.)
Hygiène	{ BOYER (J.), pr. s. ch. CORRE-HURST (M ^{me} L.)		BRISAUD (H.)
Maladies infectieuses..	{ BASTIN (R.) DUPONT (V.)		BROCARD (H.)
Médecine légale	{ DEROBERT (L.), pr. s. ch. HADENGUE (A.) FOURNIER (E.) GUENIOT (M.)	Pathologie médicale..	{ BUGE (A.) CASTAIGNE (P.), m. conf. CATINAT (J.) CONTAMIN (S.) COURY (C.) FREZAL (J.) HOUSSET (E.) LAROCHÉ (Cl.) LESOBRE (R.) MACREZ (Cl.) NICK (J.) PEQUIGNOT (H.) pr. s. ch. ROYER (P.) WOLFROMM (R.)
Médecine du travail..	ALBAHARY (C.)		
Neurologie	LHERMITTE (F.)		
Obstétrique	{ GRANJON (A.) HERVET (E.) LE LORIER (G.) MORIN (P.) MUSSET (R.) ROBEY (M.) THOYER-ROZAT (J.)		

	MM.		MM.
Pédiatrie-Puériculture.	{ JOSEPH (R.)	Pneumo-phthisiologie..	{ KREIS (B.)
	{ MANDE (R.)	Psychiatrie	{ PICHOT (P.)
	{ MOZZICONACCI (P.)	Psychiat. infantile...	{ DUCHÉ (D.)
	{ POLONOVSKI (C.)	Rhumatologie	{ DELBARRE (F.)
	{ ROSSIER (A.)		
Pharmacologie	{ BOISSIER (J.)	Stomatologie	{ CERNEA (P.)
	{ LECHAT (P.)		{ CHAPÛT (M ^{me} A.) m. c. agr.
Physiologie	DEJOURS (P.)		GRELLET (M.)
Physique médicale....	{ GOUGEROT (L.) m.	Thérapeutique	{ CHASSAGNE (P.)
	conf. pr. s. ch.		{ LAMOTTE (M.)
	KELLERSHOHN	Urologie	QUENU (L.)

III. — Professeurs sans Chaire et Agrégés chargés de cours de clinique annexe (à titre permanent).

	MM.		MM.
Anatomie	DEBEYRE	Clinique obstétricale.	{ GRASSET (J.)
Clinique chirurgicale..	{ ABOULKER (P.)		{ MAYER (M.)
	{ HUGUIER (J.)		{ RAVINA (J.)
	{ AMELINE (A.) pr. s. ch.	Clinique ophtalmologi-	{ DESVIGNES (P.)
	{ OLIVIER (C.)	que	{ OFFRET (G.)
	{ PADOVANI (P.)	Clinique oto-rhinola-	{ MADURO (R.)
	{ POILLEUX (F.)	ryngologique	
	{ ROUX (M.)	Clinique pédiatrique et	{ LAPLANE (R.)
Clinique médicale	{ VERNE (J. M.)	puériculture	
	{ DOMART (A.)	Clinique psychiatrique	BARUK (H.)
	{ PERRAULT (M.)	Clinique urologique ..	KUSS (R.)
	{ RAMBERT (P.)	Médecine Légale.....	GAULTIER
	{ THIEFFRY (S.)		

IV. — Professeurs détachés dans les universités étrangères.

Bactériologie	HAUDUROY (P.) p. s. ch.
Pathologie chirurgicale ..	RUDLER (J.) p. s. ch.

V. — Chargés de cours d'hygiène scolaire et universitaire.

	BOLTANSKI (E.)	LAUNAY (C.)
Secrétaire Général de la Faculté.....	M. LENA (J.)	
Secrétaires	{ M ^{me} BEURLAND (H.), M ^{me} CHAINTREUIL (G.), M ^{me} ROCHE (L.)	
Conservateur en chef	Monsieur le Docteur HAHN (A.)	
Conservateur	Mademoiselle DUMAITRE (P.)	
Bibliothécaires	{ Mmes CONTET (J.), FORGET (F.), Mlles LAURENT (H.), LE NOIR (G.), QUIÉ- VREUX (E.).	

Par délibération en date du 9 Décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MA MÈRE

A MON PÈRE

A TOUS LES MIENS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR R. PIEDELIEVRE

PROFESSEUR DE LA CHAIRE DE MÉDECINE LÉGALE
A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS,
MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR.

*Qui nous a fait le grand
honneur d'accepter la présidence
de cette thèse.*

*Qu'il trouve ici le témoignage
de notre reconnaissance.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR M. GAULTIER

PROFESSEUR DE MÉDECINE LÉGALE
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS,
MÉDECIN DE L'HÔPITAL FERNAND VIDAL,

*Avec l'expression de notre vive
reconnaissance et de notre pro-
fonde gratitude pour la grande
bienveillance qu'il a toujours
manifestée à notre égard.*

A MONSIEUR LE DOCTEUR ET. FOURNIER

MÉDECIN ASSISTANT DES HÔPITAUX DE PARIS
AGRÉGÉ DE L'UNIVERSITÉ,

*En sincères remerciements
pour nous avoir proposé le sujet
de cette thèse.*

A MONSIEUR LE DOCTEUR R. LE BRETON

ASSISTANT DE LA CHAIRE DE MÉDECINE LÉGALE
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS,
PHARMACIEN,
EXPERT TOXICOLOGUE,

*Dont les précieux conseils,
dictés avec sa clarté d'esprit et
son souci constant d'une intran-
sigeante objectivité, nous ont
toujours guidé dans la réalisa-
tion de ce travail.*

*En témoignage de notre grati-
tude et de notre respectueux
attachement.*

AUX DOCTEURS R. ET F. MARTIN.

A MES AMIS DU LABORATOIRE DE TOXICOLOGIE
DE LA PRÉFECTURE DE POLICE.

*Les opérations analytiques qui
ont contribué à l'élaboration de
cette thèse ont été effectuées au
Laboratoire de Toxicologie de la
Préfecture de Police.*

INTRODUCTION.

Le diagnostic d'empoisonnement repose essentiellement sur l'observation de signes cliniques mais il faut encore que ces derniers correspondent au poison décelé par l'examen toxicologique ou simplement soupçonné par les renseignements recueillis sur les circonstances de l'apparition de l'état pathologique.

Le diagnostic d'empoisonnement par le seul examen clinique n'est pas aisé et souvent impossible car les symptômes d'intoxication par des produits fort différents se ressemblent, tout au moins au début. Ce sont en général des signes digestifs : nausées ou vomissements, douleurs gastriques, abdominales, diarrhées, pouvant être accompagnées de signes hépatiques, rénaux ou nerveux. Les degrés de ces manifestations pathologiques pourront aider à orienter le diagnostic mais pratiquement les signes cliniques ne seront pas décisifs.

Les difficultés pour établir un diagnostic d'empoisonnement proviennent de la similitude des signes avec ceux de maladies plus familières ; en effet, la rareté relative des intoxications peut faire oublier leur existence, en tout cas ne donne pas la sûreté que l'on acquiert dans les actes habituels. Les intoxications collectives par un fongicide comme celle de Pont-Saint-Esprit, ou par des spécialités pharmaceutiques, la poudre de toilette BAUMOL pour nourrissons à l'anhydride arsénieux, le STALINON pour la Furunculose, aux organo-stanniques, démontrent surabondamment par leurs milliers de visites médicales sans résultats valables et leurs centaines de certificats de décès pour cause naturelle, que l'empoisonnement pose un problème ardu de diagnostic.

Des éléments de première importance pourront être fournis par l'interrogatoire du malade ou de l'entourage. La connaissance d'un simple nom de produit toxique peut expliquer les

constatations cliniques et fournir une quasi-certitude dont la confirmation définitive sera apportée rapidement, dans ces conditions, par les examens de laboratoire.

Il faut insister sur le rôle capital du renseignement car la recherche et l'identification d'une substance peuvent être faites rapidement alors que l'examen toxicologique systématique nécessite, par le nombre considérable d'opérations à réaliser, un temps trop long pour que ses résultats puissent être encore efficaces pour le malade.

Malheureusement, dans la plupart des cas, quelles que soient les connaissances et la clairvoyance du médecin, l'interrogatoire du malade ou de l'entourage n'apportera pas l'orientation décisive.

On est alors amené à demander sa contribution au laboratoire. Dans les cas de coma, en l'absence de signes de localisation, le médecin peut obtenir de tout laboratoire la confirmation du diagnostic des comas auto-toxiques : urémique, diabétique avant ou à la suite d'une insulinothérapie massive. Il est déjà moins fréquent de voir fournir avec toute la rapidité requise dans ces diagnostics d'urgence un résultat affirmatif sur la réalité d'un coma oxycarboné ou barbiturique. Seuls quelques rares spécialistes pourront retrouver rapidement un alcaloïde ou l'un de ces nombreux médicaments nouveaux hypnotiques neuroleptiques ou tranquillisants. Il serait désirable pour le prestige du laboratoire de disposer dans ces cas offrant la plus grande urgence, de techniques rapides, sûres, d'exécution aisée pour identifier un coma toxique d'étiologie inconnue ou simplement soupçonnée.

Ainsi le problème du *diagnostic toxicologique rapide* reste préoccupant malgré les perfectionnements constants des techniques.

Le présent travail se propose de rechercher les méthodes les plus appropriées à la découverte rapide dans les milieux biologiques des substances organiques.

La pratique de la toxicologie montre une double difficulté, d'abord l'extraction aussi quantitative que possible d'une substance ou de ses produits de métabolisme à l'état de pureté, puis l'identification de ces substances à l'état de traces.

Dans un premier chapitre nous étudierons les méthodes d'extraction des poisons organiques en insistant sur celles qui peuvent être exécutées rapidement ; dans un deuxième chapitre nous envisagerons les méthodes permettant l'identification de très faibles quantités de ces substances, et dans un troisième chapitre nous rapporterons quelques cas d'intoxication parmi plusieurs milliers d'examens exécutés en quinze années de pratique toxicologique.

CHAPITRE I.

MÉTHODES D'EXTRACTION DES POISONS ORGANIQUES.

Les méthodes d'extraction des poisons organiques à partir des milieux biologiques ont fait l'objet dans le passé de très nombreux travaux à l'occasion surtout de l'utilisation des dérivés barbituriques qui donnent encore lieu à un nombre important d'intoxications.

Les recherches sont effectuées par la plupart des auteurs sur l'urine et il est exceptionnel que le sang soit utilisé.

Les techniques employées préconisent de partir d'une prise d'essai d'urine assez importante pour pallier les pertes successives du toxique, au cours de la défécation, des extractions incomplètes par les solvants en milieu liquide, et enfin de la purification nécessaire avant de procéder à toute caractérisation. Cependant l'intoxiqué présente souvent, par inhibition passagère du centre de la diurèse, une oligurie prononcée ; le laboratoire se trouve donc bien souvent dans l'obligation d'opérer sur un échantillon restreint à quelques ml. et même si ce dernier est abondant, c'est qu'il résulte de la dilution par une urine de formation antérieure à l'action toxique. D'ailleurs, partir d'une prise d'essai importante, c'est allonger la durée des opérations, en particulier l'évaporation des liquides d'extraction dont la quantité est en rapport avec le volume initial d'urine employé.

Pour ces raisons il apparaît que le choix des méthodes d'extraction est lié aux possibilités d'identification de minimes quantités de substances par les méthodes chimiques et physiques les plus sensibles.

La constatation qu'il est parfois difficile de mettre le toxique en évidence dans l'urine au début de l'intoxication nous conduit à envisager également sa recherche dans le sang, milieu dans lequel le toxique est constamment présent et qui constitue, en fait, le milieu de choix pour ces investigations.

L'intérêt de la recherche et du dosage des poisons organiques ne se limite pas à ce point de vue toxico-médical, certes important, mais s'étend aux recherches médico-légales et à la physiologie pour essayer d'élucider le sort des toxiques dans l'organisme.

1) MÉTHODES QUALITATIVES D'EXTRACTION DE L'URINE.

Les méthodes d'extraction des dérivés barbituriques à partir de l'urine peuvent être divisées schématiquement en deux grands groupes, d'une part, celles effectuées directement sur l'urine, d'autre part, celles comportant avant toute autre opération, une défécation ; ces dernières restent actuellement les plus employées.

Dans le premier groupe, celle de FISCHER et VON MERING [1] est une des rares qui peut se prévaloir d'être quantitative, mais elle a surtout servi de méthode de recherche.

FISCHER et VON MERING concentrent l'urine sous pression réduite au 1/15 de son volume initial. Ils font plusieurs épuisements à l'éther et après évaporation de ce solvant, le résidu est purifié par un traitement au charbon animal suivi d'une cristallisation dans l'eau chaude.

PAGET [2], SENSI [3] ont proposé l'épuisement direct de l'urine par l'éther ; BIANCALINI [4] opère de même avec l'éther acétique et BODENDORF [5] avec le chloroforme. Ces méthodes ne sont pas recommandables car, outre la formation d'une émulsion très gênante, parfois irréductible, elles conduisent à des résidus, à partir desquels il est impossible de caractériser le barbiturique sans de nombreuses et longues purifications.

KUHN [6] traite l'urine après acidification au moyen de l'acide sulfurique par le permanganate de potassium et termine par une purification au noir animal puis une sublimation. MIHALOVITS [7] traite l'urine chaude acidifiée par l'acide acétique et l'acide sulfurique au moyen d'une solution de permanganate de potassium jusqu'à coloration violette. Après

action de l'eau oxygénée et du charbon de peuplier, la liqueur filtrée cède son barbiturique à l'éther acétique qui est alors chassé par évaporation.

CHARONNAT et LACHAUX [8] ont proposé une technique réalisable en trente minutes basée sur le « relargage » du dérivé barbiturique sous l'influence d'un sel neutre, le sulfate d'ammoniaque, ajouté à l'urine acidifiée. Mais si cette technique est rapide, elle est peu sensible, l'insolubilisation des barbituriques dans ces conditions n'étant efficace que pour des concentrations supérieures à 200 mg. par litre d'urine.

Certains auteurs utilisent le pouvoir adsorbant d'un charbon actif qui est ensuite isolé et l'élution du barbiturique est réalisée par un solvant.

MOHRSCHULZ [9] fait bouillir 15 à 20 ml d'urine avec 0,2 g de charbon médicinal, centrifuge à chaud, rejette la couche liquide surnageante. Le culot et les parois du tube sont séchés avec du papier filtre. Le charbon est épuisé en ajoutant 3-4 ml d'alcool et 7 ml de chloroforme. Après filtration et addition d'alcool absolu pour clarifier le milieu, il effectue la réaction de PARRI. BRUNDAGE et GRUBER [10] agitent l'urine diluée et acidifiée avec du charbon actif, puis séparent le charbon par filtration. Ce dernier est alors mélangé avec du sulfate de calcium et l'on extrait de ce mélange le barbiturique adsorbé à l'aide d'un solvant composé de parties égales d'éther et d'éther de pétrole. Après évaporation le barbiturique est dissous dans le chloroforme et ces auteurs appliquent la réaction de KOPpanyi. La plupart des techniques utilisées actuellement pour l'extraction des dérivés barbituriques de l'urine s'inspirent de la méthode de STAS-OTTO dont « l'éther acide » abandonne précisément ces dérivés par évaporation (OGIER et KOHN-ABREST) [11].

Le traitement par un solvant volatil est effectué sur le liquide acide, ou acidifié, obtenu par défécation de l'urine. Cette défécation est réalisée au moyen du chlorure de calcium (MACADIEU [12]), du sous acétate de plomb (FABRE [13], MANCINI [14]), de l'acétate neutre de plomb (MOLLE B. et KLEIST H. [15], VAN ITALLIE et STEENHAUER [16], FLEURY [17], PUCHER [18], VAN RIJN [19], FOUCHET [20], SACK [21], KLINCENFUS et REINERT [22], du sulfate de cuivre et de la potasse (STRZYGOWSKI [23], KOPpanyi, MURPHY et KROP [24], du ferrocyanure de potassium et de l'acétate de zinc (PAGET et DESODT

[25]), du sulfate de cuivre et tungstate de sodium (LUNEGAR, DILLE et KOPPANYI [26]). L'excès de déféquant est éliminé différemment, ainsi l'excès de sel de plomb par l'hydrogène sulfuré (MOLLE et KLEIST [27]), le sulfate de sodium (FABRE [28]), le carbonate de sodium (MANCINI [29]), le gaz carbonique (KLINCENFUSS, REINERT [30]).

Les solvants utilisés sont le chloroforme, l'éther, l'éther acétique. La purification en vue d'obtenir un produit suffisamment pur pour être soumis aux réactions de caractérisation, peut porter sur le filtrat obtenu après défécation convenable mais généralement sur la liqueur volatile qui résulte de l'extraction de ce filtrat ou encore sur le résidu résultant de l'évaporation du solvant.

MOLLE, KLEIST [31] réalisent la purification du défécât par un traitement au charbon animal.

FOUCHET [32], après lavage de la solution éthérée à l'eau, poursuit la purification en épuisant l'éther avec une liqueur ammoniacale, l'excès d'ammoniaque en étant chassé, il caractérise le dérivé barbiturique par formation d'un complexe avec le cuivre et la pyridine comme l'avait indiqué ZWICKER, [33]. Ce complexe permet de purifier les résidus d'extraction car en le soumettant à l'action des acides dilués le barbiturique est libéré sans altération.

Le plus souvent, le solvant est évaporé et c'est sur le résidu que l'on procède à la purification. A cet effet, certains auteurs le dissolvent dans l'eau, la liqueur est alors soumise à des traitements variés.

Le charbon animal a été très utilisé à la suite de MOLLE et KLEIST [34] pour purifier les dérivés barbituriques extraits de l'urine.

FABRE [35], KUHN [36], LAGARCE [37], DESODT [38].

Si ce procédé fournit une bonne décoloration, le résidu peut toutefois contenir encore quelques impuretés.

Le permanganate a été proposé par VAN ITALLIE et STEENHAUER [39] qui opèrent ainsi : le résidu dissous dans l'eau bouillante est additionné d'acide sulfurique dilué et d'une solution de permanganate de potassium jusqu'à décoloration du liquide. L'excès de permanganate est décomposé par l'eau oxygénée, le barbiturique est extrait de cette liqueur par l'éther acétique. Ce procédé mis à profit par MANCINI [40] et

VAN RIJN [41] n'apporte pas de meilleurs résultats que le charbon animal mais peut altérer les dérivés barbituriques en particulier ceux possédant des liaisons éthyléniques.

Le bichromate de potassium a été utilisé dans les mêmes conditions par SACK [42].

Le sulfate mercurique a permis à FLEURY [43] de former un complexe mercuriel insoluble duquel le barbiturique est libéré par passage en solution acide d'un courant d'hydrogène sulfuré, l'extraction est finalement réalisée par l'éther.

L'aluminium activé proposé par KOHN-ABREST [44] pour purifier les résidus alcaloïdiques a été employé par SENSİ [45] pour les barbituriques extraits de l'urine. LOBO [46] n'a pas trouvé cette pratique plus avantageuse que celle utilisant le charbon animal.

Enfin le résidu peut être purifié directement par sublimation (KEMPF [47], TUNMANN [48], PUCHER [49], FISCHER et KOFLER [50], KUHN [51], CHARONNAT, LACHAUX [52]).

LOBO a fourni une technique de microsublimation très étudiée dans sa thèse p. 39.

Les méthodes par défécation que nous venons d'envisager présentent certains inconvénients.

Les défécations diverses utilisées peuvent entraîner une perte par fixation du dérivé barbiturique sur le précipité en particulier sur le précipité plombique dans le cas de la phényl-éthylmalonylurée (P. FLEURY, GUINNERAULT [53]) et aussi lorsque le traitement est effectué sur des urines alcalines (Lobo [54]). En fait, on peut échapper à ce dernier en réalisant la défécation en milieu faiblement acide.

Si l'on se propose de pratiquer une extraction aussi quantitative que possible, les traitements par le solvant doivent être répétés un grand nombre de fois en raison du partage du barbiturique entre le liquide aqueux et le solvant, partage d'ailleurs compliqué dans le cas de l'éther en particulier par la solubilité de ce solvant dans l'eau. On est conduit ainsi à évaporer de grands volumes de solvant à moins d'utiliser l'extraction continue, comme l'a fait R. FABRE [55].

Quelle que soit la technique d'extraction employée, elle conduit systématiquement (avec l'éther et les autres solvants proposés : chloroforme, éther acétique) à un résidu impur coloré par les pigments de l'urine.

Nous avons vu tous les procédés utilisés pour obtenir la purification ; ils ne se réalisent pas sans pertes, quelquefois très élevées. Ainsi, pour le noir animal, son choix doit être judicieux car certains noirs ont un pouvoir adsorbant accentué pour les dérivés barbituriques. Enfin, toutes ces opérations sont longues ; ce n'est pas le moindre reproche qu'on puisse faire à des techniques essentiellement destinées à renseigner sur l'origine d'une intoxication et sur l'opportunité qu'il y a d'instituer un traitement approprié.

La durée considérable d'exécution des techniques en usage résultant, nous venons de le rappeler, des extractions plus ou moins répétées en milieu liquide, des volumes souvent considérables de solvant qu'il faut éliminer par évaporation, de la purification du résidu préliminaire précédant à l'identification, H. GRIFFON et R. LE BRETON [56] se sont fixés comme but de trouver un procédé qui évitant la défécation, réalisât l'extraction, la purification du solvant et l'évaporation de celui-ci en une seule opération et en quelque sorte automatiquement.

Il est avantageux, pour établir un tel mode opératoire, de partir d'une prise d'essai d'urine aussi réduite que possible, et c'est dans ce but que ces auteurs ont recherché une réaction très sensible et très sûre des dérivés barbituriques. H. GRIFFON et R. LE BRETON ont été amenés à élaborer une technique rapide et sensible de recherche de ces dérivés dans l'urine, qui nous paraît à l'abri de la plupart des critiques qu'on peut adresser aux méthodes actuellement en usage.

Le principe et le mode opératoire de cette technique sont les suivants :

Principe. — L'urine acidifiée convenablement, triturée avec une quantité suffisante de sulfate de sodium anhydre, conduit en quelques minutes à une masse pulvérulente et sèche dans laquelle le barbiturique se trouve à l'état libre. Un simple traitement de la masse par l'éther réalise l'extraction du principe recherché.

Mais en dissolvant le barbiturique, l'éther se charge également et en première approximation de pigments, d'acide libérés par l'acide acétique, de l'excès de celui-ci soluble dans l'éther, et enfin d'un peu d'eau.

Contrairement aux techniques généralement employées qui effectuent la purification du résidu, ici la solution éthérée de barbiturique est elle-même purifiée. Cette solution traverse, à

cet effet, les trois produits suivants : sulfate de sodium anhydre, magnésie et charbon végétal actif, où elle est déshydratée, neutralisée et débarrassée des pigments par adsorption.

En effectuant, à l'aide des méthodes usuelles, des mesures du pouvoir adsorbant du charbon actif utilisé et de la magnésie pour les dérivés barbituriques en solution dans l'éther, il a été trouvé que dans ces conditions l'adsorption était nulle, compte-tenu de la faible concentration des dérivés barbituriques dans l'éther, de la quantité minimale de charbon utilisée et du temps de contact extrêmement court entre celui-ci et la solution. Par contre, il est observé une adsorption singulièrement intense pour les matières colorantes et l'extractif de l'urine.

Grâce à un dispositif approprié, l'éther est évaporé au fur et à mesure de son écoulement dans le tube même où se fera la caractérisation. La durée de l'évaporation est donc celle de l'extraction, ce qui permet d'effectuer l'ensemble des opérations dans un temps minimum.

Il peut être utile de signaler que l'emploi des couches successives de sulfate de sodium anhydre, magnésie et charbon peut évidemment être mis à profit pour la purification de l'éther résultant de l'extraction des dérivés barbituriques en milieu liquide par les méthodes usuelles. Il suffit de filtrer cet éther sur les trois couches de produits disposés dans un entonnoir à séparation, ou dans l'ajutage d'un tube à extraction en suivant les indications données plus loin.

Ce procédé de purification est d'application générale car il permet d'obtenir d'emblée une liqueur d'extraction anhydre et un résidu incolore sans aucune perte de dérivés barbituriques ou de tout autre poison organique.

Technique de H. GRIFFON et R. LE BRETON.

20 ml d'urine introduits dans un mortier de 500 ml sont additionnés d'acide chlorhydrique dilué au dixième jusqu'à réaction acide au tournesol, puis par petites portions de 35 g de sulfate de sodium anhydre en triturant constamment. Le mélange finalement obtenu pulvérulent et sec, est transvasé dans un tube à extraction de 250 mm de longueur et de 30 mm environ de diamètre intérieur. L'olive de ce tube est obturée par un petit tampon de coton hydrophile très serré sur lequel on a disposé au préalable une couche de charbon végétal

actif de 0,20 g environ, une couche de magnésie de même poids et une troisième couche de sulfate de sodium anhydre de 2 g.

50 ml d'éther sont ensuite versés dans le tube à extraction. Les gouttes de solvant qui ne tardent pas à s'écouler (l'écoulement est réglé en obturant le tube plus ou moins) sont reçues et vaporisées au fur et à mesure de leur arrivée dans le fond d'un tube à essai de 100×10 mm introduit à cet effet, au préalable, dans un autre tube vertical de diamètre légèrement supérieur contenant quelques gouttes de mercure ou d'eau. Ce dernier plonge dans un bain de vapeur constitué par une fiole conique au col de laquelle il est soudé bord à bord. La fiole est munie au surplus d'un tube latéral servant de réfrigérateur à air ; elle renferme de l'eau maintenue à $70-80^{\circ}$.

L'orifice inférieur du tube à extraction doit être pendant l'opération à environ 5 cm du dessus du tube récepteur de solvant.

Lorsque l'éther a disparu à la partie supérieure de la masse de sulfate de sodium et qu'il ne s'écoule plus que très lentement, 30 ml sont passés environ ; on retire le tube extracteur et on laisse le tube récepteur en place 15 à 30 secondes pour parachever la dessiccation si cela est nécessaire.

Si le résidu obtenu est nettement visible et cristallin, on en prélève une parcelle qu'on place dans une petite capsule de porcelaine. Sur cette parcelle on procède aussitôt à la caractérisation en l'additionnant de 1 ml d'alcool absolu dans lequel il se dissout complètement, de 1 ml de solution de nitrate de cobalt centimoléculaire dans l'alcool absolu, puis de 1 ml de solution de diéthylamine 3 fois moléculaire dans l'alcool absolu, la présence des dérivés barbituriques, même ceux possédant un groupement de substitution à l'azote, se traduit par l'apparition instantanée d'une teinte violette très nette.

Le tube contenant le résidu cristallin sert ultérieurement à l'identification du dérivé à l'aide des procédés usuels, notre préférence allant à la réaction microcristalloscopique de Denigès. Lorsque le résidu est faible, constitué quelquefois par un enduit imperceptible, on effectue directement dans le tube la réaction colorée décrite, modification de celle de W. PARRI.

Observations.

Il convient de préciser quelques points relativement à l'obtention de la dessiccation de l'urine par le sulfate de sodium anhydre en vue de l'extraction.

1°) L'acidification des urines alcalines ou fermentées doit être faite avec l'acide chlorhydrique et non l'acide acétique, car la formation d'acétates hygroscopiques s'oppose à une bonne dessiccation de la masse.

2°) Indépendamment de la nature de l'acide utilisé, ces difficultés peuvent provenir d'une part de la nature du sulfate de sodium anhydre utilisé, et d'autre part de la température ambiante.

Des résultats constants sont toujours donnés par le sulfate de sodium Prolabo étiqueté « Sulfate de sodium neutre pur sec n° 28.III ». Ce sel se présente sous forme d'une poudre finement cristalline qu'il est avantageux de pulvériser finement avant l'emploi afin de faciliter son hydratation.

En ce qui concerne l'influence de la température, on sait que le sulfate de sodium fond à 33° dans son eau de cristallisation ; cette température correspond à la formation du sel anhydre. L'hydratation est d'autant meilleure que la température est plus inférieure à 33°. Pratiquement, lorsque la température ambiante dépasse 25° et se rapproche de 30-33°, le mélange sulfate de sodium anhydre-urine reste pâteux, bien que la quantité de sulfate soit supérieure à la théorie.

En dessous de 25°, l'hydratation ne présente pas de difficulté et conduit rapidement à une masse pulvérulente sèche. En été, notamment, si l'on ne peut pas opérer dans un local frais, nous avons trouvé avantageux d'arroser le mélange de quelques ml d'éther, dont l'évaporation au cours de la trituration abaisse la température d'une façon très sensible, ce qui permet d'obtenir une masse pulvérulente et sèche très rapidement.

Une autre indication de cette addition d'éther est qu'elle facilite la dessiccation de certaines urines, contenant des sels biliaires, qui, à la trituration, prennent la consistance d'une crème mousseuse.

3°) Il y a lieu de recommander de laver avant l'emploi le coton hydrophile avec de l'éther, afin de supprimer l'entraînement des petites quantités de matières grasses qu'il renferme très souvent.

4°) Il convient également de vérifier le charbon actif utilisé au point de vue de la non-adsorption des dérivés barbituriques dans les conditions de la technique. Alors qu'ils sont adsorbés en milieu aqueux, il n'en est pas de même en solution étherée.

Justifications.

Rapidité : la technique décrite peut être exécutée sans entraînement en moins de 20 minutes. Ce temps est relatif au mode opératoire avec caractérisation terminale du produit extrait à l'aide de la réaction colorée générale, le tube à extraction étant préparé au préalable avec ses couches adsorbantes ainsi que la fiole à évaporation rapide du solvant.

Sensibilité : elle permet de retrouver régulièrement sans aucune équivoque 0,2 mg de dérivés barbituriques. Cette quantité initialement contenue dans 20 ml d'urine correspond à une concentration de 10 mg par litre (1/100.000) limite inférieure de sensibilité. Elle décèle dans l'urine des 24 heures l'élimination de barbituriques administrés à une dose thérapeutique (100 mg et moins par jour).

Nous avons vu précédemment que les proportions de réactifs utilisés pour la réaction colorée donnent une teinte violette très nette avec 0,1 mg d'un barbiturique. Si la technique proposée permet de retrouver 0,2 mg initialement contenu dans 20 ml d'urine, cela ne signifie pas nécessairement que ces deux dixièmes de mg sont extraits intégralement.

En effet, l'extraction par passage d'une quantité d'éther employée en une seule fois, où 15 à 18 ml seulement du solvant sont recueillis, n'est évidemment pas quantitative. Dans ces conditions, la réaction de la sensibilité colorée permet de dire qu'en partant de 20 ml d'urine contenant 0,2 mg de barbiturique, une fraction de cette quantité, supérieure ou égale à 0,1 mg, est caractérisée dans le résidu, ce qui justifie le qualificatif de sensible donné à la technique.

Nous verrons qu'en la conduisant méthodiquement, l'extraction est quantitative. Notons dès maintenant cependant qu'en recevant, avec cette technique rapide l'éther d'extraction dans des tubes tarés, il est possible de se faire une idée, par une simple pesée de l'ordre de grandeur du barbiturique isolé. Les quantités retrouvées sont d'ailleurs voisines des valeurs théoriques.

Nous nous permettons d'insister sur l'intérêt que présente l'emploi du dispositif d'évaporation du solvant en tube vertical. Il permet d'obtenir très rapidement un résidu d'évaporation localisé sur une très faible surface, celle d'un fond de tube à essai, bien inférieure par conséquent à celle des réci-

pients utilisés communément pour ce genre d'opération, ce qui est particulièrement avantageux lorsqu'on doit faire agir sur le produit isolé de très faibles quantités de réactifs.

Pureté des résidus. — Les résidus obtenus sont d'une pureté remarquable pour les barbituriques ajoutés à l'urine. Certains se présentent toujours en cristaux (Véronal, Dial) ; d'autres (Gardénal, Sonéryl, Rutonal) sont le plus souvent sous une forme vitreuse, incolore, très dure, qui, par grattage, donne une poudre blanche, mais souvent la cristallisation s'amorce d'elle-même dans la masse vitreuse.

De toute façon, leur point de fusion est d'emblée théorique, mais il faut se rappeler que ces corps présentent plusieurs variétés, et parfois, pour obtenir la variété la plus courante, il faut dissoudre le barbiturique dans quelques gouttes d'éther et laisser évaporer spontanément ; après séchage à l'étuve, on prend le point de fusion.

Si, pour des barbituriques ajoutés à l'urine, il est retrouvé la substance intacte avec son point de fusion, il n'en est plus de même quand le produit a été métabolisé. Le produit recueilli cristallise aussi, mais très lentement, et les cristaux sont tout à fait différents. Le point de fusion n'est pas conservé. Le résidu brunit lentement à l'air en plusieurs jours.

On ne peut mettre en évidence les dérivés glycuroniques par la réaction de TOLLENS. Ce produit soumis à la microcristalloscopie selon la technique de DENIGÈS ne donne pas immédiatement les cristaux caractéristiques comme cela se produit avec un dérivé barbiturique ajouté, mais après plusieurs heures la cristallisation s'amorce, et dans plusieurs cas où nous avons pu la suivre, elle a conduit aux mêmes formes que le produit pur ou celui obtenu après défécation plombique de l'urine d'un sujet ayant absorbé le véronalide.

Naturellement il n'est pas possible de déceler la moindre trace de sulfate dans le résidu.

Les urines, dont certaines très concentrées provenant de sujets n'ayant jamais absorbé de dérivés barbituriques, d'autres émises par des malades non soumis à une thérapeutique barbiturique, ne donnent, dans les conditions de la technique, aucun résidu appréciable.

A ce propos signalons à nouveau que le coton hydrophile a souvent besoin d'être dégraissé à l'éther avant d'être utilisé.

Les tubes récepteurs dégagent seulement une légère odeur aromatique disparaissant par passage à l'étuve à 100°. La réaction colorée effectuée dans le tube après une telle extraction est toujours négative ; ce fait est en faveur de la spécificité de l'extraction et de la réaction décrite. Il n'y a donc pas lieu d'envisager les réactions parasites données dans certaines conditions avec le nitrate de cobalt et les bases par les constituants de l'urine, comme la créatinine.

2) MÉTHODES QUALITATIVES D'EXTRACTION DU SANG.

Dès l'apparition des empoisonnements par les dérivés barbituriques, c'est surtout dans l'urine qu'on s'attache à les identifier à la suite de FISCHER [57] qui les y trouve en nature.

Ce milieu biologique, de prélèvement simple, se prête le mieux et sans grandes difficultés à l'extraction de ces hypnotiques. On admet jusqu'alors que les dérivés barbituriques peuvent être systématiquement retrouvés dans l'urine au cours des intoxications sans tenir un compte suffisant du rapport existant dans le temps entre l'ingestion du toxique et l'élimination de celui-ci.

Nous avons en effet constaté à la suite de plusieurs auteurs, notamment FLANDIN, JOLY, BERNARD [58] que la recherche des dérivés barbituriques se révèle parfois négative dans l'urine de sujets ayant indubitablement absorbé une de ces substances à dose toxique, cette recherche portant sur le premier prélèvement d'urine effectué par sondage dès l'arrivée de l'intoxiqué à l'hôpital.

DESODT [59], puis TILLY [60], remarquent aussi que l'élimination urinaire n'est pas instantanée, mais ne commence qu'une dizaine d'heures après l'ingestion de l'hypnotique.

Ce phénomène s'explique par une inhibition passagère du centre de la diurèse au début. Aussi l'urine trouvée dans la vessie a-t-elle été éliminée antérieurement à toute excrétion toxique qui dépend elle-même de l'état fonctionnel du foie et du rein du sujet, ou bien l'urine qui élimine les premières portions de barbiturique a-t-elle été diluée par celle préexistante dans la vessie. La concentration du toxique peut dans ce dernier cas se trouver inférieure à la limite de sensibilité de la méthode d'extraction utilisée.

Quelle que soit la cause de ce phénomène, il en résulte naturellement que, d'une part on ne peut accorder une valeur absolue au résultat de la recherche des dérivés barbituriques dans l'urine au début d'une intoxication lorsqu'il est négatif, et que, d'autre part, il est nécessaire de disposer d'une technique de détection de ces substances aussi sensible que possible. Ces remarques s'appliquent à tous les poisons organiques.

On peut sans doute objecter à cette manière de voir qu'une technique trop sensible n'est pas en mesure de distinguer entre l'élimination consécutive à une ingestion de dérivés barbituriques à dose thérapeutique et celle résultant d'une ingestion à dose toxique. Mais la valeur de cette objection est singulièrement amoindrie si, comme nous l'avons constaté, on considère que la concentration dans l'urine des dérivés barbituriques pris à dose thérapeutique peut être égale ou supérieure à celle trouvée dans l'urine d'intoxiqués.

Dans ces conditions, tout dosage effectué en vue d'avoir une indication sur la dose ingérée est rendu inutile au même titre que l'emploi d'une méthode volontairement grossière pour discerner l'usage d'une intoxication.

On est ainsi amené à concevoir que la recherche des dérivés barbituriques dans le premier prélèvement d'urine effectué sur l'intoxiqué — et c'est ce prélèvement qui décide de la conduite à tenir dans un très grand nombre de cas, même à l'aide d'une technique très sensible — n'est pas suffisante à elle seule pour conclure quant à la cause exacte d'un état comateux présumé barbiturique.

La recherche des dérivés barbituriques dans le sang des intoxiqués préconisée par plusieurs auteurs, entre autres A. TARDIEU [61], Ch. FLANDRIN [62] et KOHN-ABREST [63] suscite-t-elle les mêmes réserves ? Il ne le semble pas.

Cependant, la recherche des dérivés barbituriques dans le sang des intoxiqués n'est pas entrée dans la pratique courante : sans doute sait-on que toutes les techniques actuelles de recherches des dérivés barbituriques s'appliquent beaucoup plus laborieusement au sang qu'à l'urine ? De plus, comme le toxique n'existe qu'en petites quantités dans le sang et que les réactions qualitatives généralement employées jusqu'ici sont peu sensibles, il faut avoir à sa disposition une quantité assez importante.

Cette condition est facile à réaliser quand les anamnésiques confirment l'examen clinique car l'exsanguino-transfusion constitue une thérapeutique d'urgence efficace.

Si il y a un doute, le médecin n'envoie au Laboratoire qu'une quantité restreinte de sang sur laquelle il faudra effectuer les dosages du glucose et de l'urée, déterminations qui devraient toujours être faites pour compléter la recherche des dérivés barbituriques afin d'éliminer d'emblée les autres causes principales de comas : l'urémie, le diabète, l'hypoglycémie thérapeutique.

Même si l'on dispose d'une quantité suffisante pour les techniques généralement pratiquées, les manipulations sont délicates, leur durée d'exécution est fort longue et c'est là le principal inconvénient de la recherche effectuée sur le sang.

Les méthodes les plus utilisées reproduisent celle de STAS-OTTO à quelques modifications de détails près.

Dans la technique indiquée par FABRE [64] l'emploi de l'alcool comme agent de coagulation conduit à des liqueurs difficiles à filtrer. Aussi CHERAMY et LOBO [65] ont-ils remédié à cet inconvénient en utilisant l'acétone.

De nombreux autres auteurs pratiquent la défécation comme pour l'extraction de l'urine. Les déféquants sont très variés, pour FLORENCE [66] et VITTE [67] c'est l'acide trichloracétique, pour STRZYGOWSKI [68] et KOPPANYI [69] l'hydroxyde de cuivre, DESODT [70] le ferrocyanure de zinc, KOPPANYI [71] et BRUNDAGE et GRUBER [72] l'acide tungstique.

Ces méthodes de défécation présentent les mêmes inconvénients dans l'extraction du sang, et encore plus marqués que ceux signalés par nous lorsqu'elles sont appliquées à l'urine.

En effet, le coagulum est plus important encore, la filtration est pénible, le volume du solvant nécessité par l'extraction du déféquat est élevé, et la purification finale plus difficile.

Certains auteurs tels que HERWICK [73], R. FISCHER [74] et SENSI [75] agitent directement le sang avec le solvant.

Les techniques de FABRE [76], protéolyse et électrodialyse sont élégantes, mais visant à une extraction quantitative, elles sont longues et ne peuvent être utilisées dans le but qui nous préoccupe ici : la recherche rapide. La technique qui remplit actuellement le mieux cette condition est celle de LOBO [77]. Elle s'effectue en 3 heures et permet de mettre en évidence le véronal à la concentration de 1 mg par 10 ml en partant d'une prise minimum de 50 ml de sang.

*Méthode rapide pour la recherche des dérivés barbituriques
dans le sang.*

« *Technique.*

« Opérer sur 50 ml de sang, au minimum, s'il est coagulé,
« ce qui est le cas le plus fréquent, introduire le sérum dans
« un ballon et placer le caillot dans un mortier où on le triture
« avec du sable en présence de 1 g d'acide tartrique. Verser
« dans le mortier, par petites portions et en agitant, de l'acé-
« tone à raison de 100 ml pour 50 ml de sang. Décanter l'acé-
« tone et le verser dans le ballon contenant le sérum. Cette
« addition de l'acétone au sérum doit se faire lentement et en
« agitant de façon à obtenir une précipitation des albumines
« en flocons très divisés.

« En s'aidant d'une spatule et de 100 ml d'acétone, on
« transvasera le contenu du mortier dans le ballon. Si par
« hasard le sang avait été additionné d'un anticoagulant, il
« suffirait de le verser directement dans le ballon et de l'addi-
« tionner d'acétone, avec les précautions indiquées ci-dessus,
« pour obtenir une bonne division du précipité albuminoïdi-
« que.

« On adapte au ballon un réfrigérant à reflux et on chauffe
« au bain-marie, de façon à maintenir le liquide en ébullition
« pendant 20 minutes environ. On refroidit avec de l'eau
« froide, ou mieux avec de la glace, le ballon et son contenu,
« et on filtre sur un filtre mouillé avec de l'acétone, en rece-
« vant le filtrat dans une capsule.

« Au résidu restant dans le ballon, on ajoute 50 ml d'acé-
« tone et on chauffe au bain-marie à nouveau pendant 10 mi-
« nutes. Après refroidissement comme précédemment, on
« filtre. Le ballon et le filtre sont lavés avec une petite quan-
« tité d'acétone, et les liquides acétoniques sont distillés ou
« simplement évaporés au bain-marie dans une capsule.

« Le résidu est repris par 100 ml d'eau distillée contenant
« environ 15 g de sulfate d'ammonium. La solution est chauf-
« fée quelques minutes au bain-marie, pour chasser complè-
« tement l'acétone, en même temps que l'on agite, pour facili-
« ter la dissolution des produits contenus dans le précipité dé-
« posé sur les parois.

« On refroidit alors soigneusement et on filtre, sur un filtre
« mouillé, en recevant directement le filtrat dans une ampoule
« à décantation. Le liquide dont on vérifie la réaction acide est
« épuisé à 3 reprises avec 100,50 et 50 ml d'éther. Les liqueurs
« éthérées, réunies, sont lavées dans l'ampoule à décantation
« avec 10 ml d'eau. L'éther est évaporé par petites portions
« dans une fiole conique, puis, quand il n'en reste plus que
« quelques ml, transvasé dans un cristalliseur où on achève
« l'évaporation au bain-marie.

« Quand le sang renferme des quantités de barbituriques
« supérieures à 5 mg pour 50 ml le résidu présente l'aspect
« cristallin caractéristique. Il est possible alors d'identifier le
« produit en utilisant les réactions spécifiques telles que celles
« de DENIGES. Quand le résidu est amorphe ou ne fournit pas
« les réactions caractéristiques, il est alors nécessaire d'en
« effectuer la purification suivant la technique que nous avons
« indiquée.

« Mais dans la plupart des cas chez les intoxiqués graves,
« la teneur du sang en hypnotique est suffisante pour que
« l'identification soit possible sur le premier extrait ».

Cette méthode est encore trop longue pour avoir une grande valeur pratique en clinique.

La technique que H. GRIFFON et R. LE BRETON [78] ont proposée pour l'extraction des barbituriques de l'urine s'applique avec une sensibilité et une rapidité comparables en ce qui concerne l'extraction du sang.

Le mode opératoire est exactement le même, sauf l'inversion de l'ordre des couches neutralisantes et décolorantes dans l'olive du tube à extraction, car dans le cas du sang nous avons constaté qu'avec la disposition utilisée pour l'urine, le charbon passe dans la solution éthérée, sans doute sous l'influence de traces de lipides extraits dans ces conditions. En plaçant le charbon au-dessus de la couche de magnésie, cet inconvénient disparaît complètement. La masse se dessèche un peu moins rapidement que pour l'urine, c'est pourquoi l'ensemble des opérations demande 1/2 heure au lieu de 20 minutes.

Cette technique peut être pratiquée indifféremment sur un sang coagulé ou non, ce qui n'est pas le cas pour les méthodes utilisant la défécation.

Le résidu fourni par cette extraction directe est très peu abondant pour le sang d'un sujet normal n'ayant pas pris de médicament. En effet, dans ces conditions, l'éther n'entraîne pas les lipides du sang en quantité aussi grande que l'on pourrait le supposer. En dehors de cas d'hypercholestérolémie, le résidu obtenu pour 25 Ml de sang est à peine sensible et en tous cas ces lipides ne gênent pas l'apparition de la coloration violette de la réaction de PARRI effectuée dans les conditions précisées ci-dessus.

Si nous avons affaire à un résidu important de cholestérol, il est repris par 1 à 2 ml d'eau chaude ; on filtre sur papier mouillé, et après évaporation au bain-marie on caractérise comme d'ordinaire.

La sensibilité de cette technique permet d'opérer sur 30 ml de sang, et même moins, comme le justifient les expériences suivantes : 1 mg de véronal dissous dans l'eau et ajouté à 25 ml de sang est facilement retrouvé cristallisé et donne la belle coloration violette de la réaction de PARRI.

Des expériences sur le cobaye montrent que les mêmes résultats sont obtenus aussi facilement lorsque le barbiturique est ingéré par l'animal. C'est ainsi que chez un cobaye de 300 g ayant ingéré 50 mg de véronal, on a retrouvé 25 minutes après l'ingestion, dans 15 ml de son sang, 1,1 mg du barbiturique (quantité déterminée colorimétriquement). Chez un autre, après ingestion de 150 mg de véronal, il est retrouvé dans 20 ml de sang prélevé à la 75^e minute, 4 mg d'hypnotique, soit une concentration de 200 mg par litre.

Cette technique ne conduit pas à une extraction quantitative, elle peut entraîner une perte de 15 % pour 50 mg de véronal ajoutés à 20 ml de sang, mais sa sensibilité permet tout de même une caractérisation rapide.

C'est ainsi que dans un cas d'intoxication par le Gardénal que nous avons observé, il a été retrouvé très facilement 1,9 mg de Gardénal dans 25 ml de sang ; dans un autre cas, pour une ingestion de 1 gramme de Gardénal, nous avons retrouvé dans 30 ml de sang 0,4 mg de barbiturique, que nous avons identifié ensuite par extraction de l'urine.

Un autre fait donnant plus de valeur à cette méthode, c'est qu'il ne nous a pas été possible de déceler le véronal après 1/2 heure, 1 heure et 2 heures, sur respectivement 21, 22 et 26 ml de sang d'un sujet ayant ingéré 100 mg en une fois. Au fur et à mesure du passage dans le système circulatoire, le vé-

ronal est réparti dans les tissus et partiellement éliminé par le rein ; on peut facilement le déceler dans l'urine où il a été collecté après plusieurs heures.

Pour les faibles doses ingérées le rein élimine le toxique du sang assez rapidement pour que la concentration dans le sang reste très faible à tout moment.

Le fait de déceler le barbiturique dans le sang est en faveur déjà d'une prise importante du toxique, à plus forte raison si la quantité est appréciable, et cela quel que soit le laps de temps qui se soit écoulé depuis l'ingestion.

Cette méthode permet en outre de mettre en évidence une intoxication par le glucochloral, le doridène, et avec quelques variantes dans le détail, tous les poisons organiques.

Pour vérifier le passage rapide du glucochloral dans le sang, nous avons utilisé le cobaye.

On introduit dans son œsophage 100 mg de glucochloral. Après 40 minutes l'animal est sacrifié. Sur 17 ml de son sang, l'extraction conduit à un résidu blanc cristallisé.

3) MÉTHODES QUANTITATIVES D'EXTRACTION DE L'URINE.

A) Cas de l'urine fraîche.

Les rendements de l'extraction des dérivés barbituriques ajoutés à l'urine sont généralement excellents : ainsi VAN ITALLIE et STEENHAUER obtiennent 100 p. 100, SENSI 96 à 98 p. 100, KUHN 85 à 95 p. 100, PAGET DESODT 92 p. 100, SACK 95 p. 100.

L'extraction proposée par H. GRIFFON et R. LE BRETON, telle qu'elle a été exposée au cours de la recherche rapide, est susceptible de devenir quantitative en lui apportant quelques modifications de détail et certaines précautions. Il est bien évident que les 30 ml d'éther utilisés ne peuvent pas suffire à épuiser totalement la masse pulvérulente malgré la solubilité élevée des dérivés de la malonylurée dans ce solvant. Mais ceci est facilement réalisable par une lixiviation méthodiquement conduite.

En réalité, selon la technique rapide, les extractions de dérivés barbituriques ajoutés à l'urine en quantité assez forte pour être appréciée pondéralement ont donné un rendement voisin des valeurs théoriques.

Au cours de nombreux essais, les auteurs ont reconnu que 80 ml d'éther ajoutés par portions de 10 ml suffisent toujours pour obtenir un épuisement complet d'une masse renfermant 20 mg d'un barbiturique, cette nécessité conduisait donc à l'évaporation d'une assez forte quantité de solvant. Celui-ci était donc perdu et ses vapeurs pouvaient s'enflammer, surtout dans le cas où la « fiole à évaporation rapide » est chauffée par une flamme. Aussi H. GRIFFON et R. LE BRETON ont-ils trouvé avantageux, pour remédier à ces deux inconvénients de modifier l'appareillage en le rendant complètement étanche.

D'autre part chaque goutte de solvant arrivant au contact de la paroi chaude du tube récepteur se trouve vaporisée instantanément et une telle vaporisation ne se fait pas sans un entraînement de fines particules du produit dissous qui se dépose jusqu'à la partie supérieure du tube.

Cet inconvénient n'est pas à craindre dans les conditions d'utilisation pratique, car les produits résultant du métabolisme présentent un état pâteux dont la viscosité les rend adhérents aux parois. Dans le cas d'un barbiturique ajouté à des doses élevées justiciables du dosage pondéral et jamais rencontrées en clinique, il existe une perte à laquelle il est remédié en faisant passer les vapeurs d'éther au travers d'un réseau serré tel qu'un tampon de coton de verre ou des pointes de Vigreux.

L'appareil construit pour répondre à ces desiderata se compose essentiellement d'une allonge de 20×200 mm et d'un tube récepteur de 10×100 mm muni d'un ajutage latéral. L'ouverture supérieure du tube rodée avec la partie inférieure de l'allonge emboîte cette dernière. L'ajutage latéral de même diamètre que le tube naît dirigé obliquement vers le haut à la base du quart supérieur de ce dernier puis bientôt courbé vers le bas suivant un angle obtus : il se termine par un rodage entrant dans celui d'un réfrigérateur descendant. La portion ascendante de l'ajutage comporte une série de pointes de Vigreux, sur le rôle desquelles il a été insisté et dont l'efficacité est mise en évidence par la vue d'une fine couche blanche de poudre microcristalline qui les recouvre en fin d'opération et la recherche négative des barbituriques dans l'éther condensé.

L'appareil étant en place, prêt à fonctionner, la portion inférieure du tube récepteur plonge dans la gaine de la fiole à évaporation rapide au contact avec le mercure.

La vitesse d'écoulement de l'éther peut être réglée, mais cela n'est généralement pas nécessaire si l'on ne tasse pas les

couches autrement qu'en donnant des chiquenaudes à l'allonge, en exerçant une pression plus ou moins grande au moyen d'un bouchon de caoutchouc souple enfoncé graduellement dans l'ouverture supérieure ou mieux à l'aide du dispositif suivant, qui ne nécessite pas de surveillance :

Une seringue de verre d'une capacité de 50 ml, dont le piston est lubrifié avec un mélange à parties égales vaseline et lano-line assure la compression. Disposée verticalement l'embout vers le bas, elle est reliée par un tube à vide en caoutchouc à un tube de verre traversant le bouchon qui assure la fermeture hermétique de l'allonge. Un robinet à trois voies intercalé entre la seringue et le bouchon permet quand celui-ci est en place de mettre en communication la seringue avec l'air extérieur afin de la remplir si le piston arrive à fin de course.

La vitesse d'écoulement de l'éther est réglée une fois pour toutes au début de l'opération par addition de petites surcharges sur la tête du piston qui s'enfonce régulièrement.

Cet appareil représente un notable perfectionnement sur le montage initial ; il réalise parfaitement et simultanément l'extraction des dérivés barbituriques ou de tout autre poison organique, l'évaporation et la récupération du solvant.

L'opération terminée, le tube récepteur est porté quelques instants à l'étuve à 100°.

Le dosage est réalisé par pesée de ce tube préalablement taré ; si la quantité de barbiturique s'avère trop faible on le dissout dans un volume convenable et connu d'alcool absolu et l'on procède sur cette solution au dosage colorimétrique.

Le rendement de cette méthode a été étudié en ajoutant des quantités de barbituriques voisines de 20 mg pesés au 1/10 mg. Pour les barbituriques peu solubles dans l'urine, il a été employé, pour obtenir une dissolution totale, une solution ammoniacale à 1 p. 100. Le tableau I exprime le rendement obtenu.

TABLEAU I.

Veronal	Gardénal	Rutonal	Soneryl	Dial
99,63	97,50	98,80	100,25	98,40
99,75	100,40	99,40	100,25	99,80
99,70	98,00	99,60	99,50	98,40

Le dosage colorimétrique a permis l'établissement du rendement pour les faibles concentrations, comme celles relevées au cours d'une utilisation thérapeutique modérée.

Les valeurs sont groupées dans le tableau II.

TABEAU II.

Barbiturique	Concentration par litre en mg.	Quantité de barbiturique dans la prise en mg.	Total retrouvé	Rendement	
<i>Véronal</i>	250	5	4,91	—	18 %
	125	2,5	2,566	+	2,5 %
	62,5	1,25	1,36	+	8,79 %
	36,8	0,736	0,686	—	6,79 %
<i>Phanodrome</i>	250	5	5,16	+	3,2 %
	125	2,5	2,62	+	4,8 %
	62,5	1,25	1,18	—	5,6 %
	35,4	0,708	0,675	—	4,6 %
<i>Gardénal</i>	250	5	5,004	+	0,48 %
	165	2,5	2,449	—	2,04 %
	62,5	1,25	1,276	+	2,08 %
	34,8	0,696	0,640	—	8,04 %
<i>Dial</i>	250	5	4,833	—	3,34 %
	125	2,5	2,29	—	8,2 %
	62,5	1,25	1,159	—	7,28 %
	36,4	0,728	0,724	—	0,54 %
<i>Sonéryl</i>	250	5	4,68	—	6,36 %
	125	2,5	1,205	—	3,6 %
	62,5	1,25	1,197	—	4,24 %
	37,1	0,742	0,670	—	9,7 %
<i>Rutonal</i>	250	5	5,064	+	1,32 %
	125	2,5	2,445	—	2,15 %
	62,5	1,25	1,17	—	6,24 %
	38,1	0,763	0,637	—	16,5 %

B) Cas de l'urine putréfiée.

Dans bien des cas il peut être utile au toxicologue de connaître le comportement des dérivés barbituriques dans les milieux en putréfaction.

Il est rare de pouvoir commencer l'analyse dans les premiers jours suivant la mort, aussi importe-t-il de savoir si ce laps de temps modifie les résultats.

Dans l'affirmative, il faudrait donner à cette recherche la priorité sur d'autres pouvant être différées sans inconvénient. Ensuite cette question reste importante pour la contre-expertise possible. LAGARCE [80] étudie la résistance à la putréfac-

tion des dérivés barbituriques ajoutés à l'urine. C'est ainsi que pour le DIAL il trouve une disparition égale à 33 p. 100 pour un mois de contact, et dans une période de 4 mois 1/2 les pertes pour le Veronal, le Soneryl et le Gardenal sont respectivement de 66,6, 61,6 et 41,8 %.

DESODT [81], malgré un séjour à l'étuve à 37°, ne trouve qu'une perte de 15 à 16 p. 100 pour le Veronal et le Dial après 1 mois et pour le Gardenal une disparition de 35 % dans les mêmes conditions pour une période de 3 mois, ces produits ayant été ajoutés à l'urine.

LOBO [82], dans sa thèse, étudiant l'action des alcalis sur les barbituriques, montre que les produits de transformation de ces corps sont entraînés par la défécation plombique, ce qui explique la disparition partielle du Veronal dans les urines abandonnées à la fermentation.

L'étude de ce phénomène se fait le plus commodément sur l'urine qui se prête à une extraction facile et rigoureuse. Nous avons dit déjà que les urines fermentées doivent être acidifiées à l'aide d'un acide minéral et non par l'acide acétique, dont les sels hygroscopiques apportent une gêne à la dessiccation. L'extraction est en tout point identique à celle de l'urine fraîche, aussi dans ce chapitre n'allons-nous envisager que l'influence de la putréfaction.

H. GRIFFON et R. LE BRETON [83] ont été amenés à vérifier si par leur procédé d'extraction, la disparition est de même importance que pour les méthodes utilisant la défécation.

Ces expériences portent sur des produits ajoutés à une urine et sur des produits excrétés par des individus ayant absorbé des dérivés barbituriques à dose thérapeutique et à dose toxique.

Voici les chiffres relevés pour une urine fermentant depuis huit mois et qui renfermait à l'origine 40 mg de Veronal pour 20 ml. L'urine a été acidifiée par l'acide chlorhydrique avant de procéder à la défécation et le filtrat présentait une réaction acide au tournesol. L'extraction a été faite par quatre agitations avec un demi-volume d'éther à chaque fois ; l'éther a subi une purification sur une couche de charbon actif.

	Méthode H.G-R.L.	Défécation au ferrocyanure de zinc.	Défécation plombique.
Retrouvé.....	33 mg.	25,7	23,7
Point de fusion .	165°	184°	189°

Pour les méthodes utilisant la défécation, le produit extrait est presque entièrement constitué de Veronal pur. Le résidu obtenu avec ce mode opératoire est un mélange de Veronal et de produits de dégradation.

L'évaporation spontanée de sa solution éthérée dans un verre de montre permet une séparation grossière, ainsi la substance constituant l'auréole externe présente un point de fusion 188-190°, celui du Veronal. Vers le centre du verre de montre, le point de fusion est de 130°.

Il est extrait de cette façon une partie des produits de transformation du Veronal.

H. GRIFFON et R. LE BRETON se sont demandés ce qu'était devenue la partie disparue, car si tous les produits de transformation étaient extraits il est probable (d'après ce que l'on sait) que le poids trouvé différerait peu de 40 mg. La perte peut s'expliquer par l'insolubilité dans l'éther de certains produits de transformation, par leur adsorption au cours du passage de la couche de charbon actif, ou leur fixation sur la magnésie. Pour éviter cette dernière cause d'erreur, la magnésie a été remplacée par du carbonate de calcium jouant le même rôle de neutralisant et de fixateur de quelques pigments urinaires.

Dans ces conditions, il est retrouvé effectivement 39,6 mg de substance. Certains produits de transformation ont donc une affinité pour la magnésie ; ce sont sans doute des acides assez forts.

La colorimétrie a été mise en œuvre pour permettre de savoir si, dans ces produits, le noyau malonyluré peut rester intact.

Il a été pesé 12 mg de la dernière substance extraite et la dissolution a été opérée dans 4 ml d'alcool.

Sur un ml de cette solution alcoolique, la colorimétrie est pratiquée comme il a été indiqué pour les quantités voisines de 3 mg de Veronal. L'étalon le plus proche par sa teinte est celui renfermant 1,57 mg de Veronal.

La proportion de Veronal contenu dans la substance recueillie est de 50,33 p. 100, ce qui représente, pour 40 mg de Veronal introduits dans l'urine en fermentation, une proportion intacte de 20,1 mg.

La colorimétrie réalisée sur le produit résultant de l'extraction en présence d'une couche de magnésie fournit le résultat suivant :

3 mg de substance renferment 1,84 mg de Veronal ; comme il est recueilli 33 mg., cette quantité représente 20,2 mg de Veronal. Ces deux résultats, aux erreurs d'expériences près, sont identiques au chiffre fourni par la défécation plombique : 23,7 mg.

Les expériences ci-dessus montrent bien l'altération du noyau malonyluréé des barbituriques ajoutés à une urine au cours de la putréfaction, et sa transformation pour une part en produits présentant une affinité pour une base comme la magnésie.

Voici quelques tableaux résumant des expériences de H. GRIFFON et R. LE BRETON sur la disparition des dérivés barbituriques ajoutés aux urines en putréfaction.

L'évolution de la concentration ammoniacale a été suivie par formol-titration, selon la méthode de SORENSEN.

TABLEAU I.

Dates	Nombre de jours de putréfaction	Ml de soude N/10 pour 10 ml d'urine	Poids de substance extraite	Véronal dosé par colorimétrie.
18 Mai		2	40,1	39,8
23 Mai	5	4	40,2	40,1
30 Mai	12	5,5	39,5	37,2
11 Juin	24	25	37,2	36,9
25 Juin	38	16	36,5	34
4 Juillet	47	8	35,5	31,4
27 Juillet	70	6,5	35	30,2
4 Août	78	6,5	34,1	29,3
13 Septembre.	118	6	33,2	30
30 Septembre.	135	5	32,3	29,2

L'urine est répartie par prises de 20 ml dans des flacons non bouchés.

Chacun renferme 40 mg de Véronal.

TABLEAU II.

Dates	Nombre de jours de putréfaction	Ml de soude N/10 pour 10 ml d'urine	Poids de substance extraite	Véronal dosé par colorimétrie.
6 Août		2	20,1	19,4
12 Septembre.	37	19	19,4	19,2
30 Septembre.	55	9	19,6	18,8
17 Octobre...	72	7	19	17,9
12 Décembre.	128	5	16,6	13,5
1 ^{er} Février...	178	5	16,5	12,8

L'urine est répartie par prises de 20 ml dans des flacons non bouchés.

Chacun renferme 20 mg de Véronal.

TABLEAU III.

Dates	Nombre de jours de putréfaction	Ml de soude N/40 pour 10 ml d'urine	Poids de substance extraite	Véronal dosé par colorimétrie
7 Mai.....		1,1	40,1	39,8
17 Mai.....	10	42	40,2	39,6
21 Mai.....	14	43	40	39,6
28 Mai.....	21	40	39,7	39,2
10 Juin.....	34	40	39,6	39
26 Juin.....	50	38	39,2	38,3
5 Juillet.....	59	38	39	38,4
7 Août.....	92	37	39	38
13 Septembre	129	35	36,1	32,2
3 Octobre...	149	35	35	30,8
11 Janvier....	249	34	33,2	29,2

L'urine renferme deux grammes de Véronal par litre. Elle est conservée dans un flacon bouché au liège. La prise est faite sans agiter le flacon.

TABLEAU IV.

Dates	Nombre de jours de putréfaction	Ml de soude N/40 pour 10 ml d'urine	Poids de substance extraite	Véronal dosé par colorimétrie
6 Août.....		2	20,1	19,4
12 Septembre	37	19	19,4	19,2
30 Septembre	55	9	19,6	18,8
17 Octobre...	72	7	19	17,9
12 Décembre.	128	5	16,6	13,5
1 ^{er} Février...	178	5	16,5	12,8

L'urine est répartie par prises de 20 ml dans des flacons non bouchés.

Chacun renferme 20 mg de Dial.

TABLEAU V.

Dates	Nombre de jours de putréfaction	Poids de substance extraite	Dial dosé par colorimétrie
8 Août.....		20	19,8
20 Janvier.....	164	9	8,6

L'urine est répartie par prises de 20 ml dans des flacons bouchés.

Chacun renferme 20 mg de Dial.

H. GRIFFON et R. LE BRETON ont suivi l'influence de la putréfaction sur le produit d'élimination du Gardénal chez un intoxiqué.

Nombre de jours de putréfaction	Gardénal dosé par colorimétrie dans 20 ml d'urine
0	3 mg,2
41	2 mg,8
56	2 mg,8
75	2 mg,6
105	2 mg,2

Ces expériences montrent la destruction non négligeable du noyau malonylurée au cours de la putréfaction.

Il importe donc au toxicologue de réduire au minimum les effets de la putréfaction par une réfrigération suffisante et surtout d'opérer cette recherche dès que possible.

4) MÉTHODES QUANTITATIVES D'EXTRACTION DES TISSUS.

A) Cas des organes.

La méthode générale d'extraction des poisons organiques à partir de milieux biologiques, proposée par STAS pour la recherche des alcaloïdes à la suite d'une recherche de nicotine dans un empoisonnement criminel, a servi d'exemple à la plupart des techniques utilisées de nos jours pour extraire les dérivés barbituriques et les nouvelles substances introduites en thérapeutique, qu'elles soient ou non de nature alcaloïdique.

Cette méthode est basée sur la solubilité des sels organiques d'alcaloïdes dans l'alcool et dans l'eau, la libération de l'alcaloïde en milieu aqueux par les alcalis et son facile passage dans le chloroforme ou l'éther par simple agitation.

La technique, dans ses lignes principales, s'établit ainsi pour les organes : après division convenable, digestion au b.-m. à 70° quelques heures avec 3 à 5 parties d'alcool à 95° le tout acidulé par l'acide tartrique. La liqueur alcoolique refroidie

est filtrée et concentrée. Le résidu est repris par l'eau distillée, cette solution alcalinisée cède à l'éther par agitation l'alcaloïde dans un état de pureté relative.

En vue d'effectuer une première purification Otto fait une extraction par l'éther de la solution aqueuse acide. Cette opération réalise une dichotomie parmi les substances que contient la solution aqueuse, certaines passant dans ce premier éther d'extraction qualifié couramment « d'éther acide ». Dans cet éther acide se retrouvent les dérivés barbituriques mais aussi bien des impuretés comme des acides gras et des matières colorantes.

Cette technique a été largement utilisée pour l'extraction des barbituriques, mais à cet effet, la liqueur aqueuse était agitée, à plusieurs reprises et après alcalinisation avec l'éther afin d'éliminer les matières grasses. La liqueur acidifiée au moyen de l'acide sulfurique dilué est traitée à nouveau et par trois fois à l'éther.

Le barbiturique passe dans ce solvant, l'évaporation laisse un résidu encore souillé d'impuretés et dont nous avons vu les multiples moyens de purification employés par les auteurs à propos des produits extraits de l'urine.

Les points de détail de la technique de STAS-OTTO ont été très variés. L'extraction a été réalisée aussi bien par macération que par digestion, la préférence allant en général à cette dernière et cela en acidité organique ou minérale. Pour l'extraction des dérivés barbituriques, la nature des solvants organiques utilisables est indifférente par suite de leur facile solubilité dans de tels milieux ce qui n'est pas tout à fait le cas pour certains alcaloïdes.

Le titre de l'alcool ajouté à la masse traitée se trouve fortement abaissé par l'eau dont les tissus renferment une grande proportion (80 %), aussi la dissolution de substances gênantes susceptibles d'accompagner le barbiturique dans les solvants ou de provoquer des émulsions difficiles à réduire est-elle favorisée ; pour les éliminer OGIER [84] les précipite par des traitements successifs à l'alcool fort.

Une purification plus poussée de la solution aqueuse est faite par KOHN-ABREST [85] au moyen de pétrole léger.

LAGARCE [86], dans sa thèse, a fait ressortir la difficulté d'obtenir une extraction totale à partir d'organes riches en lipides et la ténacité des émulsions fournies par cette technique classique.

CHERAMY et LAGARCE [87] ont proposé pour éviter ces émulsions un traitement au chlorure de baryum éliminant les substances qui en sont la cause ; la solution tartrique additionnée de chlorure de baryum est filtrée, l'excès de ce sel est éliminé par l'acide sulfurique dilué.

La liqueur limpide ainsi obtenue se prête mieux aux extractions par les solvants. Cette méthode d'OGIER et KOHN-ABREST a fait l'objet d'une étude très précise de LOBO [88] qui signale ses inconvénients, en particulier la filtration difficile de la première solution alcoolique, la gêne apportée par la mousse produite au cours des distillations, mais surtout les émulsions qui se forment pendant l'épuisement de la solution aqueuse par les solvants volatils. En outre son rendement est très variable, ce qui tient à un épuisement initial incomplet, aux pertes subies au cours des purifications successives comme les précipitations par l'alcool fort, l'agitation avec l'éther de pétrole, la filtration sur papier mouillé.

CHERAMY et LOBO [89] pensant que les émulsions sont dues aux protides et aux phospho-aminolipides, ont utilisé comme solvant l'acétone qui ne solubilise pas les lécithines et précipite les matières protidiques.

Voici leur mode opératoire :

TECHNIQUE CHERAMY ET LOBO (THÈSE LOBO p. 67).

« Les viscères finement divisés sont introduits dans un ballon et additionnés d'une solution d'acide tartrique à 20 p. 100 jusqu'à réaction franchement acide, puis de 2 fois 1/2 leur volume d'acétone rectifié. On adapte au ballon un réfrigérant à reflux et on chauffe pendant 2 heures au bain-marie à 60°.

« Après refroidissement on filtre le contenu du ballon sur un filtre mouillé à l'acétone. Le contenu du filtre est soumis à l'expression et lavé à l'acétone, l'acétone de lavage étant mis de côté.

« Le filtrat est introduit par petites quantités dans l'appareil distillatoire décrit dans le traité de Toxicologie d'OGIER et E. KOHN-ABREST (T. II, p. 88) et soumis à la distillation dans le vide, sous une pression de 10 à 20 ml de mercure environ.

« Quand tout le premier liquide a distillé, on introduit de la même manière l'acétone ayant servi au lavage du ballon du résidu des viscères et du filtre. Finalement la distilla-

« tion est poursuivie jusqu'à ce que le contenu du ballon atteigne la consistance d'extrait mou.

« Cet extrait est dissous à chaud dans le ballon, dans 200 ml au moins d'acétone pur. Cette dissolution est facilitée par une vive agitation et au besoin par l'addition de quelques perles de verre.

« La solution trouble ainsi obtenue est refroidie énergiquement si possible dans la glace et filtrée sur un petit filtre imbibé d'acétone. Le filtrat est reçu dans un ballon contenant quelques perles de verre. Le ballon précédent est lavé avec un peu d'acétone qui est passé également sur le filtre.

« La solution acétonique est distillée à la pression normale jusqu'à consistance sirupeuse. Le résidu est repris par 200 ml d'eau et additionné de 20 à 30 g de sulfate d'ammonium pur. La solution est chauffée sous vide, jusqu'à commencement d'ébullition de manière à chasser les dernières traces d'acétone. Elle est ensuite refroidie énergiquement, puis filtrée sur un filtre mouillé. Le ballon et le filtre sont lavés avec une solution à 10 p. 100 de sulfate d'ammonium.

« On vérifie la réaction acide du filtrat et on l'épuise à trois reprises dans une ampoule à décantation avec son volume d'éther. Les liqueurs étherées réunies dans l'ampoule à décantation sont lavées avec une petite quantité d'eau distillée, puis desséchées sur le sulfate de sodium anhydre. Le sulfate de sodium est séparé par filtration sur du coton, et l'éther est distillé. Le résidu de la distillation correspond aux produits enlevés par l'éther acide et contient les barbituriques.

« Dans le cas d'organes fortement chargés en lipides, nous avons trouvé avantage à introduire dans la technique une reprise par l'eau du résidu de distillation de la première solution acétonique qui habituellement est effectuée au moyen de l'acétone pur ».

Nous avons reconnu maintes fois que l'acétone favorise la pénétration des tissus et par là-même l'extraction du barbiturique ; en outre les filtrations des liqueurs ne présentent aucune difficulté.

Dans la pratique de cette méthode, nous avons noté certains inconvénients, surtout en ce qui concerne l'extraction à partir de la matière cérébrale. La reprise par l'eau que Lobo propose pour les organes fortement chargés en lipides s'avère

défectueuse. De cette façon, la séparation des lipides gênant la suite des opérations est bien assurée, mais l'eau de reprise en aussi grande quantité qu'elle soit utilisée est-elle suffisante pour enlever à la masse des lipides tous les dérivés organiques qui s'y trouvent inclus ?

La filtration sur papier mouillé de la solution aqueuse est critiquable ainsi que d'ailleurs le remarque LOBO lui-même dans sa thèse (p. 52).

Enfin, le lavage à l'eau de la solution éthérée occasionne une perte due au coefficient de partage entre ces deux solvants.

FABRE [90] a proposé une méthode tout à fait originale pour éviter les difficultés que présente celle de STAS-OTTO. Son idée directrice est de faire agir la pancréatine sur les organes de manière à obtenir un liquide aqueux duquel on extrait le barbiturique par les solvants. La technique demande un certain temps mais les manipulations sont réduites et faciles.

Protéolyse - FABRE.

« Les organes convenablement pulpés sont délayés dans
« cinq parties d'eau distillée et le mélange est porté à l'ébulli-
« tion quelques instants. On laisse refroidir à 50-55° et le
« produit transvasé dans un flacon à large ouverture est
« soumis à l'action de la pancréatine, ajoutée au mélange dans
« la proportion de 1 g pour 50 g de pulpe.

« Après un séjour de 10 à 12 heures à l'étuve la protéolyse
« est pratiquement complète. On porte à l'ébullition et on
« sépare le résidu par centrifugation ou filtration. Le liquide
« ainsi obtenu, parfaitement limpide, est traité en milieu acide
« par l'éther, soit par agitation, soit au moyen de l'appareil
« à épuisement continu de MM. FAYOLLE et LORMAND, sans
« qu'il y ait à craindre d'émulsions tenaces comme on en
« observe fréquemment au cours de semblables manipulations.

« Par distillation du solvant, on obtient en général un résidu
« cristallisé d'une pureté telle qu'il peut être soumis direc-
« tement à l'action des réactifs caractéristiques des produits
« étudiés.

« Dans le cas de différents viscères, et du sérum sanguin
« en particulier, l'ébullition précédant l'action de la pancréa-
« tine est nécessaire afin de détruire l'antitrypsine qui s'oppo-
« serait à la protéolyse ».

Nous savons que le rendement des méthodes est surtout abaissé par la mauvaise pénétration des masses, et par la solubilité des corps organiques dans les constituants cellulaires ; aussi cette méthode liquéfiant présente-t-elle un sérieux avantage, l'emploi des mixeurs ne pouvant résoudre que le premier problème.

En 1927, FLORENCE [91] emploie l'acide trichloracétique pour précipiter les albumines. Par la suite, VITTE a utilisé cette technique pour rechercher les barbituriques dans la substance cérébrale de la façon suivante :

Technique de VITTE. (Sur la substance cérébrale de chiens intoxiqués par le Gardénal et le Véronal).

« La substance cérébrale de l'animal (dont le poids est voisin de 100 g si l'animal est de bonne taille) est triturée en mortier de façon à obtenir une pâte sans grumeaux.

« Ajouter ensuite 5 ml de la solution d'acide trichloracétique à 20 p. 100. Triturer quelques instants jusqu'à obtention d'une masse homogène. Verser à nouveau 5 ml de la solution précédente et agiter comme il vient d'être dit ; continuer ainsi l'opération chaque fois avec 5 ml jusqu'à concurrence de 100 ml environ.

« En opérant ainsi, on obtient une masse fluide très divisée, et la dissolution du toxique se fait dans les conditions les plus favorables.

« Au bout d'une demi-heure, ajouter 50 ml d'eau ; agiter la masse quelques instants, laisser ensuite en contact au moins une demi-heure, en remuant de temps en temps. Filtrer. On obtient ainsi un liquide limpide.

« L'extraction se fait avec environ 100 ml d'éther en ajoutant le liquide contenant le toxique par petites portions (30 à 40 ml chaque fois). Filtrer l'éther et évaporer.

« *Purification.* — Le résidu est dissous dans l'eau légèrement ammoniacale. On ajoute une petite pincée de noir animal et on porte au bain-marie un quart d'heure environ. On le reprend par l'eau ammoniacale et on filtre ; on acidifie (au tournesol) et on extrait à nouveau par l'éther. On obtient un produit assez pur pour le caractériser ».

LOBO [92] pratiquant ce procédé lui a trouvé divers inconvénients : l'épuisement du coagulum abondant obtenu par l'action de l'acide trichloracétique est difficile ; pour l'améliorer

rer on est conduit à employer un grand volume de liqueur ; l'extraction du barbiturique à partir de cette dernière est gênée par des émulsions tenaces ; en outre, l'éther entraîne une certaine quantité d'acide trichloracétique qui souille avec persistance le barbiturique.

Méthode d'HERVICK.

HERVICK [93] sépare les graisses qui accompagnent le barbiturique par une saponification.

Les tissus divisés sont agités à la machine avec un mélange d'alcool et d'éther. Après filtration, on évapore. Le résidu est traité à chaud par une solution de potasse puis on défèque à l'acétate neutre de plomb, s'il reste des graisses non saponifiées on refait ce même traitement. On extrait la liqueur à l'éther, on évapore et purifie par sublimation.

Dans un tel mode opératoire, il est évident qu'une grande partie des barbituriques est retrouvée sous forme de produits de transformation ; en effet, les dérivés de la malonylurée sont très sensibles à chaud aux alcalis qui les hydrolysent en donnant des produits à points de fusion nettement différents.

Méthode de STRZYGOWSKI.

KOPPANYI [94] rapporte une méthode d'extraction de STRZYGOWSKI qu'il utilise de la façon suivante :

Les tissus sont liquéfiés en 24 heures par la potasse à 5 p. 100 et après un traitement au sulfate de cuivre à 10 p. 100 on filtre. La liqueur acidifiée est agitée avec du chloroforme. Cette méthode est sujette aux mêmes critiques que la précédente par son emploi prolongé de la potasse.

Méthode de SENSI.

SENSI [95] se borne à une extraction directe à l'éther acétique des viscères acidifiées. Il évapore, reprend par l'eau, et après filtration extrait à l'éther. Le résidu est purifié à l'aluminium activé.

Electrodialyse.

R. FABRE [96], dans un nouvel ordre d'idée, a mis au point pour l'extraction des barbituriques à partir des milieux biologiques l'électrodialyse, méthode susceptible d'applications gé-

nérales. Elle s'effectue à l'aide d'un appareil imaginé par R. FABRE, et dans des conditions qu'il détermine ainsi « techniques ».

Electrodialyse. — FABRE.

« Les bouillies d'organes avec le sang sont alcalinisées à pH 9,2 au moyen de diéthylamine, puis soumises à l'électrodialyse dans les conditions précédemment indiquées.

« Au bout de 48 heures, le barbiturique se trouve dans le bac anodique, n'ayant entraîné avec lui que des substances ionisables minérales, faciles à séparer par extraction du liquide anodique au moyen du chloroforme, et quelques impuretés organiques plus tenaces.

« La séparation de ces dernières est assurée par microsublimation dans le vide et dans les conditions antérieurement décrites (1).

« Pour éliminer les impuretés sublimables se formant fréquemment au cours de l'électrolyse, il convient d'opérer en présence de quelques centigrammes de magnésie, à une température préalablement fixée (de 160 à 190°, suivant les corps). Le barbiturique sublime, dès lors, à l'état de pureté et peut être caractérisé soit par microfusion, soit par la réaction à l'acétate dans les conditions précisées par R. CHARON-NAT et M. LACHAUX (2).

Rendement.

Les méthodes précédentes fournissent des rendements très variables. Il est difficile, sinon impossible, de comparer les rendements indiqués par les auteurs car le résultat dépend étroitement des quantités de dérivé barbiturique et de tissus mises en jeu, sans parler de la manière d'introduire ce produit. LOBO a fait des essais comparatifs de quelques méthodes.

Chacune de ses expériences consiste dans l'extraction, après un contact de quelques heures, de 50 mg de véronal introduit en solution aqueuse dans 100 g de tissus hachés.

Ses résultats sont résumés dans le tableau suivant :

(1) SPC, 1933, (8), 18, 417.

(2) Communication à la Société de Pharmacie, 1^{er} Avril 1936.

Méthodes	Tissus		
	Foie	Cerveau	Cervelle
STAS-OTTO, OGIER. HOHN-ABREST...	74	80-64	62
CHERAMY, LOBO	82	86	
FLORENCE		22	
VITTE			28

FLORENCE [97], opérant sur le sérum de cheval et avec une forte proportion de barbiturique, ce qui l'éloigne des conditions de la toxicologie, trouve un rendement de 84 p. 100 pour sa méthode.

La méthode par protéolyse de FABRE conduit à un rendement de 80 à 85 p. 100 pour 50 mg de véronal dans 100 g de viscères.

LAGARCE, se plaçant dans des conditions spéciales par un chauffage de trois jours à 37°, obtient les résultats suivants pour 100 mg de barbiturique ajoutés à 200 g de foie.

Méthodes	Protéolyse	OGIER
Dérivé barbiturique		
Véronal	78	76,8
Gardénal.....	74	73

L'électrodialyse fournit d'excellents rendements, alors que pour le Gardénal ajouté en solution lipidique à des bouillies minérales, la méthode classique donne 20 à 25 p. 100 ; on obtient par ce procédé 80 p. 100.

Le problème de l'extraction des dérivés barbituriques et autres poisons organiques à partir des tissus réside d'une part dans la difficulté de pénétrer la masse par les liqueurs extractives pour réaliser une extraction quantitative, et d'autre part dans la difficulté d'obtenir la séparation ultérieure des lipides qui sont extraits par les mêmes solvants organiques.

H. GRIFFON et R. LE BRETON [98] se sont proposés, pour résoudre ce dernier point, d'utiliser la solubilisation dans l'eau au moyen de l'ammoniaque, puis de régénérer par acidification après une filtration sur papier mouillé, qui permet de retirer un produit à peu près exempt de lipides.

Ils ont étudié cette question d'abord à partir de milieux dans lesquels tous les constituants sont connus, aussi bien en quantité qu'en qualité, dans le but de déterminer la valeur de ce procédé au point de vue de l'extraction quantitative.

En premier lieu, il est utile de fixer les solubilités respectives d'un barbiturique dans l'eau et une matière grasse. Il est choisi pour cela le Véronal et l'huile d'olive et il est procédé à deux essais.

Dans le premier essai, il est observé le passage dans l'huile d'olive du Véronal dissous dans l'eau.

25,6 mg de Véronal sont dissous dans 10 g d'eau distillée.

On agite avec 10 g d'huile pendant 10 minutes à la machine, à raison de 2 secousses par seconde.

De 8 ml d'eau on extrait 18 mg.

La proportion de Véronal passé dans l'huile d'olive dans ces conditions est de 11 p. 100.

Dans le second essai il est déterminé le passage dans l'eau du Véronal préalablement dissous dans l'huile d'olive.

10 g d'huile d'olive correspondant à 25,6 mg de Véronal sont agités avec 10 g d'eau distillée.

L'agitation est effectuée comme précédemment. Après deux jours, une partie de l'eau se trouve séparée. Le Véronal dosé sur 8 ml est égal à 12,1 mg, soit au total pour l'eau : 15,1 mg. La proportion de Véronal passé dans l'eau dans ces conditions est de 59 p. 100.

En ce qui concerne l'huile d'olive, le partage du Véronal avec l'eau n'est donc pas en faveur de la matière grasse.

Il est vérifié ensuite le rendement de l'extraction du Véronal mis en solution éthérée par agitation avec une liqueur ammoniacale.

20 mg de Véronal sont dissous dans 20 ml d'éther.

On agite à deux reprises dans une ampoule à décantation avec 5 ml de liqueur ammoniacale à 2 p. 100. L'éther ainsi épuisé puis desséché au sulfate de sodium sec ne laisse pas, après évaporation, de résidu de Véronal. La solution ammoniacale acidifiée puis desséchée au sulfate de sodium fournit 19,7 mg de Véronal.

Les solutions alcalines détruisant graduellement les dérivés barbituriques, il est utile de vérifier l'action de la solution

ammoniacale employée au cours d'un temps de contact plus ou moins long :

100 mg de Véronal sont dissous dans 10 ml de liqueur ammoniacale à 2 p. 100 ; après un contact de 5 minutes, il est retrouvé 99,8 ; après 1 heure, 94,8 et 97,7 ; après 5 heures, 95,5 et 96,3.

Dans les conditions d'une extraction conduite avec trois épuisements, respectivement de 10 ml, 5 ml, puis 5 ml, pour 50 mg de Véronal, il est retrouvé 49,5 et 49,4 mg.

Si le contact est prolongé, il n'en est pas de même ; ainsi il est trouvé qu'une solution aqueuse de Véronal renfermant 20 mg par ml et réalisée au mortier avec le minimum de diéthylamine, présente 6 mois plus tard une perte de 40 p. 100.

Ces extractions sont effectuées maintenant en présence de matières grasses, d'abord avec du saindoux, puis avec des extraits lipidiques de divers tissus :

300 mg de Véronal et 1 g de saindoux sont dissous dans 30 ml d'éther.

Les résultats obtenus sont les suivants à chacune des extractions, la première étant faite avec 10 ml de liqueur ammoniacale à 2 p. 100, et les suivantes avec 5 ml de cette dernière solution.

1 ^{re} extraction	256,7	240	249	252,5	247	255
2 ^e extraction	20,7	19,8	14	15	16	12
3 ^e extraction.....	1,5	1,2	1	2	1	1

La même expérience réalisée avec 1 g de mélange à parties égales de saindoux et végétaline donne les chiffres suivants :

1 ^{re} extraction	271,4	283
2 ^e extraction	9,2	6
3 ^e extraction	traces	traces

Une opération dans laquelle la matière grasse est remplacée par de l'huile de vaseline conduit à la première extraction à 295,1 mg.

Pour des quantités variables de Véronal dissous dans 30 ml d'éther avec 1 g de saindoux, les quantités retrouvées s'établissent ainsi :

Pour	25 mg		20,8
—	36 mg		29,9
—	75 mg		72,5
—	210 mg		197,9
—	150 mg		141,8
—	100 mg		96,3 - 93 - 97,3
			99,5 - 98,9 - 99

Afin de se rapprocher des conditions de l'extraction en toxicologie, le barbiturique est ajouté à un extrait de tissu.

Cet extrait est obtenu par macération dans un mélange à parties égales d'alcool et d'acétone. Il est opéré avec le cerveau qui est un des organes offrant le plus de difficultés.

Les lipides extraits de 100 g de matière cérébrale sont dissous dans 100 ml d'éther dans lequel se trouvent 50 mg de Véronal.

La solution ammoniacale possède un titre de 0,5 p. 100, de plus elle est saturée au demi de sulfate de sodium de façon à obtenir une séparation facile après l'agitation. Trente-cinq ml de cette liqueur servent à trois agitations ; soumis quelques instants au vide la majeure partie de l'ammoniaque s'élimine ; l'acidification est réalisée par l'acide chlorhydrique, en employant le tournesol comme indicateur.

Après avoir desséché convenablement avec du sulfate de sodium anhydre, l'extraction du Véronal est assurée par 125 ml d'éther, à l'aide de l'appareil utilisé pour l'urine. (49,2 mg de Véronal introduits sont retrouvés).

Dans une seconde expérience, le Véronal est ajouté à la liqueur alcool-acétonique résultant du traitement de 100 g de cervelle de bœuf. Après évaporation, l'opération conduite par la suite comme précédemment, fournit 49 mg.

Ces deux expériences prouvent que des rendements déficitaires sont dus à une mauvaise extraction de la masse initiale. En effet, le barbiturique se trouve à des dilutions élevées dans les organes, le solvant pénètre difficilement les nodules où il se trouve inclus.

S'il est facile d'extraire le barbiturique solubilisé dans de l'huile d'olive par simple agitation avec de l'eau, c'est qu'il est possible de produire un état de division très poussé. Pour les tissus on n'obtient pas ainsi de bons résultats, même en utili-

sant du sable, car la masse reste élastique par suite de son état d'hydratation, d'où l'avantage de provoquer par un traitement à l'alcool acétone une déshydratation qui permet d'obtenir ensuite par trituration avec du sable une poudre fine facilement pénétrée par les solvants.

H. GRIFFON et R. LE BRETON ont choisi comme déshydratant le mélange à parties égales d'alcool et d'acétone, après avoir déterminé le rendement sur du foie additionné de Véronal.

Dans chaque extraction, 15 g de foie et 20 mg de Véronal triturés longuement au mortier, laissés en contact plusieurs heures, subissent une macération de 10 minutes, soit dans l'alcool, soit dans l'acétone, ou le mélange à parties égales de ces deux solvants.

Le liquide séparé par centrifugation, le résidu se dessèche ; il peut être alors finement pulvérisé avec du sable, puis soumis à deux extractions par l'acétone. Après évaporation à sec, l'extrait est repris par l'éther qui est filtré. On termine alors comme précédemment.

Dans ces conditions, les pertes n'excèdent pas 2 p. 100. De nombreuses expériences avec le muscle et le cerveau ont fourni des rendements du même ordre.

Pour des quantités de barbiturique de l'ordre du milligramme ajoutées à 10 g de tissu, l'extraction offre plus d'irrégularités, mais rarement la perte dépasse 20 p. 100.

En résumé, la technique d'extraction s'établit ainsi :

10 à 20 g de tissus broyés à la machine, aussi finement que possible, puis passés au mixeur, sont délayés dans un tube à centrifuger avec 30 ml de mélange à parties égales d'alcool et acétone ajouté par petites portions, afin de réaliser une coagulation progressive et fine.

Après 10 minutes de macération, on centrifuge à grande vitesse ; le liquide décanté est mis à évaporer au bain-marie. Le culot de centrifugation sèche rapidement, il est broyé au mortier avec du sable puis traité par 30 ml d'acétone à deux reprises. Ces liqueurs réunies à la première sont évaporées à sec et le résidu repris par 50 ml d'éther.

Après filtration, l'extraction se fait avec une liqueur ammoniacale à 0,5 p. 100 à trois reprises, en utilisant successivement 10, 5 et 5 ml. Ces liqueurs sont recueillies dans un tube à centrifuger, elles sont soumises au vide, puis centrifugées et filtrées sur papier mouillé.

Après acidification à l'acide chlorhydrique, le liquide est desséché au sulfate de sodium anhydre, puis extrait par lixiviation à l'éther dans les mêmes conditions qu'une urine.

B) Cas du sang.

Les méthodes d'extraction des barbituriques des tissus que nous venons d'envisager s'appliquent naturellement au sang, mais ce tissu particularisé par sa fluidité est passible d'autres procédés. L'extraction directe par agitation avec un solvant (FISCHER) n'est pas à retenir en raison des émulsions obtenues.

Diverses défécations à l'image de l'extraction de l'urine ont été très utilisées.

DESODT [99] traite le sang étendu d'eau par le ferrocyanure de potassium et l'acétate de zinc et continue l'extraction comme pour l'urine. Le rendement de ce procédé atteint 75 p. 100 ; l'auteur n'indique pas avec quelles quantités respectives de barbiturique et de sang il opère.

KOPPANYI, MURPHY et KROP [100] traitent par une solution de sulfate de cuivre à 10 p. 100 et par la potasse. Après filtration ils agitent avec du chloroforme. Le rendement est de 95 à 98 p. 100 du produit ajouté.

KOPPANYI, DILLE, MURPHY et KROP [101] défèquent 10 ml de sang avec 10 ml de solution de tungstate de sodium à 10 p. 100 et 10 ml d'acide sulfurique aux 2/3. Après filtration à la trompe, le barbiturique est extrait par agitation au chloroforme et dosé colorimétriquement.

Pour 10 mg de Véronal ajoutés à 20 ml de sang, le rendement se trouve être de 90,8 p. 100 à 93,7 p. 100.

Ces mêmes auteurs ont employé une méthode d'extraction de cholestérol proposée par MYERS et WARDELL [102]. Elle consiste à dessécher le sang au moyen de plâtre et à extraire par le chloroforme à chaud dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux. Le rendement dans les conditions de la technique précédente est de 88 à 92,7 p. 100.

BRUNDAGE et GRUBER [103], après défécation, traitent le filtrat par un charbon actif et procèdent ensuite à l'élution de ce charbon :

« 20 ml de sang ou plus sont déféqués au tungstate de sodium le filtrat est alcalinisé par la soude diluée puis on « ajoute de l'acide chlorhydrique, juste pour rendre acide. On

« ajoute 1 g de charbon actif, on agite 10 minutes, et on filtre
« à la trompe après avoir ajouté un peu d'amiante. On dessè-
« che la masse recueillie sur le filtre avec 8 g de plâtre au
« mortier, et on triture ensuite avec 10 ml d'éther.

« On extrait avec 25 ml d'un mélange à parties égales (éther
« + éther de pétrole) dans un appareil de KUMAGAWA pendant
« 45 minutes, on évapore et dose par une méthode colorimé-
« trique.

« *Rendement :*

pour 1 mg de Véronal dans 10 ml de sang ...	0,87
— 0,5 mg	0,78
— 1 mg de Gardénal	0,85
— 0,5 mg	0,92

H. GRIFFON et R. LE BRETON [104] ont appliqué au sang leur méthode quantitative d'extraction directe pour l'urine. Les poisons extractibles par l'éther en milieu acide sont isolés en un temps très court dans un état de pureté tout à fait satisfaisant. La même méthode utilisée en milieu alcalin avec le chloroforme comme solvant permet d'extraire les produits de nature alcaloïdique.

En résumé, la technique rapide d'extraction des poisons organiques de H. GRIFFON et R. LE BRETON à partir des urines et du sang conduit à un résidu d'emblée purifié, mais dont la faible importance nécessite l'emploi de méthodes d'identification très sensibles.

La technique d'extraction de STAS-OTTO et ses variantes fournit à partir des organes un résidu nécessitant toujours une purification par des méthodes appropriées.

CHAPITRE II.

MÉTHODES D'IDENTIFICATION DES TRACES DE SUBSTANCES ORGANIQUES.

D'une façon générale, les quantités de substances organiques extraites des milieux biologiques ou des organes sont si faibles, même dans les cas d'intoxications aiguës, qu'elles ne permettent pas de nombreux essais.

Le choix des méthodes d'identification doit se porter de préférence sur celles qui ne détruisent pas la substance, puis sur celles qui possèdent la plus grande sensibilité tout en répondant à une spécificité suffisante.

Quelles que soient les méthodes de caractérisation, le problème de la pureté de la substance examinée se pose, et bien souvent une purification préliminaire sera nécessaire.

Les méthodes de purification, dont certaines représentent à la fois un moyen d'identification, doivent veiller avant tout à ne pas modifier la constitution moléculaire par des procédés trop brutaux. A ce point de vue, l'emploi des résines échangeuses d'ions est satisfaisant, mais cette technique utilisée par LEVI [105] pour caractériser des narcotiques ne convient pas pour des traces de substances.

Le problème de l'identification des dérivés barbituriques à partir des milieux biologiques a donné lieu à un grand nombre de travaux, dont les principes ont été appliqués aux substances organiques introduites ultérieurement en thérapeutique.

La caractérisation des dérivés barbituriques nous retiendra plus particulièrement car ce sont les substances, depuis de nombreuses années, le plus souvent rencontrées dans les recherches toxicologiques.

Les méthodes d'identification les plus variées sont mises en œuvre, et dans la mesure du possible, les résultats de plusieurs d'entre elles seront confrontés.

1) MÉTHODES PHYSIQUES.

1°) Point de fusion.

La détermination du *point de fusion* peut être effectuée aussi bien sur le barbiturique en nature que sur l'une de ses combinaisons comme, par exemple, les produits de condensation avec le Xanthidrol de R. FABRE [106].

La mesure directe de cette constante a fait l'objet d'une étude de R. FISCHER [107], R. FISCHER et A. KOFFER [108], qui traitent notamment du polymorphisme de l'acide allylisopropylbarbiturique et du Véronal pour lequel ils décrivent trois formes dont les températures de fusion diffèrent de 7°, ce qui complique le problème de l'identification de ces substances.

L'intérêt de cette détermination, qui est en quelque sorte la méthode de référence de l'état de pureté, est atténué en chimie appliquée lorsqu'il s'agit de produits extraits de milieux riches en lipides et auxquels il faut faire subir de nombreuses purifications préliminaires (M. HELD [109], G. et H. FRERICHS [110], W. MACADIE [111], G. VENTUROLI, Franz EHRLICH).

En pratique, il est rare d'identifier une substance organique extraite d'un milieu biologique par la détermination du point de fusion. E. LYONS et A. W. DOX [127], G. W. HARGREAVES et A. W. NIXON [128] utilisent pour l'identification les points de fusion et la morphologie des composés cristallisés résultant de la condensation avec le bromure ou le chlorure de p.nitrobenzyle.

2°) Sublimation.

Une méthode élégante pour résoudre le problème de l'isolement électif des dérivés barbituriques met à profit la *sublimabilité* qui est assez spéciale à cette série. Toutefois, pour en tirer le meilleur parti, il est nécessaire d'opérer par élévation graduelle s'étendant sur plusieurs heures de la température jusqu'au voisinage du point de fusion et même en opérant ainsi et dans un vide poussé, nous avons vu des produits à odeur de graisse animale (acides gras) accompagner le produit. Les résultats restent cependant intéressants dans de nombreux cas, et à la suite de KEMPF [112] MORVILLEZ et

DUFOUT [113] WAGENAAR [114], qui décrivent des appareils, plusieurs auteurs en tirent profit : Q. TUNMANN [115], G. KLEIN et O. WEINER [116], E. KEESER. I. KEESER [117], EHRS-MANN [118], DUFOUT [119], LAGARCE [120], R. EDER et W. HAAS [121], R. FISCHER et A. KAFER [122], H. KAISER [123], R. FABRE [124], H. SHOULE, A. HELTCH. G. KEMPF, SWANSON [125], LACHAUX [126].

En fait les substances qui subliment sans altération sont peu nombreuses et la sublimation ne rend pas tous les services que l'on aurait pu escompter.

3°) Chromatographie.

Les corps organiques en solution se déplacent d'une manière caractéristique lorsqu'ils traversent une colonne de substance inerte ou lorsqu'ils se déplacent le long d'une bande de papier filtre. Le déplacement maximum du solvant constitue le front. Le rapport entre la distance parcourue par un composé et la distance parcourue par le solvant est désigné par la valeur R_f . Cette valeur dépend principalement du coefficient de partage d'un composé dans l'eau et dans un solvant non miscible.

Le R_f représente une caractéristique d'identification pour un composé donné. L'élution de la partie du support contenant le composé permet d'obtenir ce dernier purifié.

Le mélange du composé destiné à être séparé est appliqué près de l'extrémité d'une bande de papier filtre qui est plongé dans un solvant mobile. Le front du solvant se déplace vers le haut ou vers le bas du papier selon que la technique ascendante ou descendante est employée.

L'appareil à chromatographie consiste en un réservoir fermé ou un vase en verre avec un cache pour suspendre les bandes de papier filtre et un récipient contenant le solvant mobile. L'atmosphère dans le réservoir est saturée d'eau et du solvant non miscible.

Dans la séparation des alcaloïdes MUNIER et MACHEBOEUF [129] emploient le mélange n-butanol acide acétique glacial et eau, pour le solvant mobile, tandis que CARLESS et WOODHEAD [130] emploient des bandes de papier filtre saturées avec un tampon phosphate alcalin N/15 et un solvant mobile n-butanol saturé d'eau. Des bandes de papier filtre Whatmann n° 1, 2, 3 ou 50 peuvent être employées.

Le temps nécessaire pour un mouvement du front du solvant varie entre 6 et 14 heures. Différentes techniques sont utilisées comme la technique circulaire ou technique rayonnante de R. LE BRETON utilisée dans un cas d'intoxication de nicotine (DEROBERT, LE BRETON MARTIN, Ann. de Médecine Légale, 1952, 32, n° 6, 381-84) [131].

4°) Electrophorèse.

Le mélange à séparer est disposé en position intermédiaire sur une bande de papier filtre. Une différence de potentiel est appliquée aux extrémités de la bande de papier filtre saturée par un électrolyte. La séparation des constituants dépend du fait que certaines substances chargées électriquement montrent des différences relatives dans la mobilité à différentes valeurs de pH sous l'influence d'un champ électrique.

Un appareil d'ionophorèse sur papier consiste en une boîte possédant une cloison centrale la divisant en deux compartiments : anodique et cathodique. Des électrodes en platine plongent dans la solution d'électrolyte dans les compartiments anodique et cathodique. Les deux compartiments sont reliés par un pont conducteur pour permettre une équilibration initiale du niveau du liquide contenu dans les compartiments afin d'empêcher que les courants du flot d'électrolyte ne soient siphonnés. Les bandes de papier filtre sont supportées par un cadre de verre, leurs extrémités plongeant dans les compartiments d'électrolyte.

Pour le mouvement des alcaloïdes, l'électrolyte est l'acide acétique normal. Les bandes de papier filtre peuvent être en papier Whatmann n° 1, 2, 3 ou 50. Les potentiels à appliquer varient de 300 à 600 volts pour une durée d'une demi-heure à 2 heures.

5°) Polarographie.

La méthode polarographique d'analyse électrochimique découverte par HEYROVSKY [132] est essentiellement basée sur l'interprétation des courbes tension-courant obtenues par l'électrolyse entre une électrode polarisable à goutte de mercure et une électrode non polarisable constituée par une large surface de mercure.

Lorsqu'on fait croître régulièrement la force électromotrice appliquée entre deux électrodes de platine plongeant dans un même électrolyte, on constate que le courant qui traverse le

circuit croît d'abord très lentement, ou pas du tout, jusqu'à une certaine valeur de la tension à partir de laquelle il augmente rapidement. Au-delà de ce point, la courbe devient sensiblement linéaire, c'est-à-dire que l'électrolyte obéit à la loi d'Ohm.

Enfin, pour des tensions élevées, le courant tend vers une limite dépendant de la concentration du sel en solution.

Cette méthode non utilisée pour l'acide barbiturique est intéressante pour de nombreuses substances organiques, parmi lesquelles les alcaloïdes.

6°) Spectrophotométrie ultra-violette.

L'étude des spectres d'absorption en lumière ultra-violette a été utilisée depuis de nombreuses années pour établir l'identité et la structure des composés organiques, notamment par N. GOMEZ [133]. Cependant, les méthodes photographiques utilisées généralement étaient trop longues, laborieuses, et souvent inefficaces. Avec le spectrophotomètre à cellules photo-électriques l'identification d'un grand nombre de composés peut être réalisée, même dans des cas où d'autres méthodes sont peu fructueuses : sédatifs, analgésiques, antihistaminiques, insecticides, alcaloïdes.

La méthode spectrophotométrique en lumière ultra-violette est rapide, sensible, et ne consomme pas la substance. Ce procédé est capable de détecter les barbituriques à des concentrations dans le sang inférieures à celles toxiques, par conséquent d'écarter ces hypnotiques comme causes d'accidents de la circulation ou de coma inexplicé.

Cette méthode est décrite en détail dans les exposés de MELLON M. G. [134] et BRODE W. R. [135].

L'identification des composés par leur spectre est empirique ; elle est faite en recherchant la courbe d'un composé connu qui s'accorde avec l'inconnu. En dépit de leur nature empirique, les identifications spectrophotométriques sont acceptées, pourvu que le travail soit fait soigneusement. Il est nécessaire que maxima et minima se présentent avec respect de la longueur d'onde, et qu'ils aient leur hauteur relative. Ceci est au mieux une identification d'un groupe chromophore particulier.

Cependant, même si deux composés ont un groupe chromophore similaire, ils n'ont pas habituellement un spectre identique sur toute l'étendue de l'ultra-violet comme cela s'observe

pour les dérivés barbituriques substitués. En règle générale, si des composés ont plusieurs points d'inflexion qui s'accordent, l'identification est plus sûre que si les points d'inflexion sont peu nombreux. Un composé comme la Quinine est relativement facile à identifier parce qu'il a de nombreux points d'inflexion, tandis que d'autres composés tel que la Strychnine qui a seulement un maximum, ne sont pas identifiés de façon concluante à partir de leur spectre.

Il existe un principe important en spectrophotométrie : c'est que presque dans tous les cas, quand deux ou plusieurs substances sont présentes dans le milieu, leurs absorptions sont additives. Ainsi, l'absence d'absorption à des longueurs d'ondes définies exclue la présence de beaucoup de substances.

Pour éviter des erreurs, il est nécessaire d'opérer toujours dans les mêmes conditions ; d'ailleurs, changer les conditions de la solution peut fournir un moyen d'une identification plus spécifique du composé. Des facteurs comme le solvant, la température, le pH, peuvent augmenter ou diminuer, ou changer complètement le spectre d'absorption d'un corps. Chacune, ou la combinaison de ces conditions, peut être utilisée pour aider à l'identification d'une substance.

En général, il est recherché une proportion de transmission de 10 à 50 pour cent.

Les hautes transmissions sont à éviter à cause des inexactitudes dues à une saleté accidentelle sur la cuve. De même, les trop basses transmissions seront à éviter en raison des inexactitudes de lecture et la non-observation de la loi de BEER. Quand deux substances absorbantes sont en présence, il peut être possible de les déterminer toutes deux si un des composants peut être identifié à des longueurs d'ondes plus grandes.

Ensuite, sa bande d'absorption peut être soustraite de l'absorption totale, et la substance restante est à son tour identifiée par sa bande d'absorption caractéristique ; quand deux composants connus sont présents, la concentration des deux peut être déterminée en posant une équation réciproque et en la résolvant à deux longueurs d'ondes.

Ce procédé est utilisé dans la détermination de l'Aspirine, de la Phénacétine, et de la Caféine (JONES M. et THATCHER R. L. [136]). Cette méthode permet de reconnaître si une drogue a été falsifiée. Nous verrons dans le chapitre suivant un tel cas concernant l'Héroïne.

La séparation de quantités relativement petites de drogues organiques à partir de substances absorbantes se rencontrant normalement dans le sang, l'urine et les tissus, présente un problème que l'analyse spectrophotométrique ultra-violettes des échantillons biologiques peut résoudre. En général, le procédé de séparation consiste à ajuster l'échantillon biologique à un pH convenable, et ensuite à extraire avec un solvant organique. La drogue organique est transférée en phase aqueuse en extrayant le solvant avec une solution acide ou basique pour former un sel soluble dans l'eau. Les absorptions de la solution aqueuse sont déterminées au spectrophotomètre dans la région ultra-violettes.

Les solvants qui ont été utilisés pour l'extraction des échantillons biologiques sont dans l'ordre de polarité croissante : l'éther de pétrole, l'hexane, le tétrachlorure de carbone, le chloroforme, le dichlorure d'éthylène, l'éther et les alcools de poids moléculaire plus élevé.

Le choix du solvant dépend du coefficient de partage du composant particulier dans l'eau et dans le solvant.

Beaucoup de composés organiques rencontrés en toxicologie demandent l'emploi de solvants polaires. Le chloroforme apparaît être le solvant de choix de presque toutes les drogues. Le dichlorure d'éthylène est le meilleur solvant polaire pour extraire à partir du tissu nerveux ; à la différence du chloroforme aucune émulsion n'apparaît.

La présence de substances absorbantes dans l'extrait final interfère avec la spécificité, la sensibilité et l'exactitude de la détermination.

Pour réduire les substances absorbantes, les solvants sont distillés, traversent un gel de silice ou sont lavés avec des acides ou des bases.

Pour compenser l'absorption par les réactifs, un échantillon d'eau est traité par le même procédé d'extraction que la substance inconnue, et employé comme solution de référence.

Selon BRODIE B., UNDEFRIEND S. et BAES [137], l'emploi du solvant le moins polaire possible réduirait l'extraction des substances normalement absorbantes dans les milieux biologiques.

En ajustant un échantillon à un pH spécifique avant extraction par le solvant, ou en lavant le solvant avec une solution de pH convenable après extraction de l'échantillon, réduira aussi l'extraction des substances interférentes.

Par exemple, dans la détermination des dérivés barbituriques, les substances fortement acides ne sont pas extraites par le chloroforme quand l'échantillon biologique est ajusté à pH 7,4.

Dans la détermination de la Quinine (JOSEPHSON E. S. [138]) le solvant d'extraction d'un échantillon biologique est lavé avec une solution alcaline de pH 9, pour réduire les substances absorbantes interférentes.

Quand une drogue a un index d'absorption élevé ou est présenté à des concentrations relativement fortes, comme dans des empoisonnements aigus, l'interférence provenant des substances normalement absorbantes peut être insignifiante.

Un thiobarbiturique, le Penthotal, est un exemple de composé ayant un index élevé d'absorption. La drogue est rapidement déterminée par l'analyse spectrophotométrique dans l'ultra-violet (JALIER J. W. et GOLDBAUM L. R. [139]).

Une correction pour l'absorption des impuretés à une longueur d'onde où le composé est pour être déterminé, peut être faite si une ligne droite existe quand les absorptions des impuretés sont groupées près des longueurs d'ondes. Ce procédé est utilisé dans la détermination des barbituriques (GOULD T. C. et HINE [140]), de la caféine (FISCHER R. S. [141]) et du benzène hexachloré [142] DAVIDON B. et WOODARD).

Dans d'autres cas, les substances interférentes peuvent être éliminées si les absorptions du composé changent avec le pH tandis que les absorptions des substances interférentes restent les mêmes.

Cette technique est employée dans la détermination des barbituriques.

Un autre procédé utilisé pour surmonter l'interférence provenant des impuretés est d'apporter un changement dans l'absorption du composé par des moyens chimiques. Dans la détermination de l'Antipyrine (BRODIE B., AXEIROD B., SOBERMAN R., et LEVY [143]), l'absorption de la solution est déterminée à 350 m μ ensuite du nitrite de sodium est ajouté. S'il y a une augmentation de l'absorption à 350 m μ , la 4-nitrosoantipyrine a été formée, indiquant la présence d'Antipyrine.

Le changement dans l'absorption est proportionnel à la concentration de l'Antipyrine de la solution.

7°) Spectrophotométrie infra-rouge.

Le spectre infra-rouge d'une substance est en rapport avec un grand nombre de paramètres structuraux, si bien que deux courbes d'absorption riches en détails et identiques dans tous leurs tracés, ne peuvent correspondre qu'au même corps. Dans beaucoup de cas, même avec un spectre contenant relativement peu de bandes d'absorptions, les composés peuvent être caractérisés avec une grande sécurité.

Quand une radiation infra-rouge d'une fréquence donnée rencontre une molécule, de l'énergie est absorbée, pourvu que la fréquence de la radiation incidente correspondante à une réelle fréquence de vibration de la molécule.

C'est pourquoi, quand les valeurs de $1/10$ pour des bandes étroites de radiations infra-rouges sont réunies près des positions spectrales, soit en fréquence, soit en unités de longueur d'ondes, un tracé est obtenu. Ce tracé, qui est le spectre d'absorption dans l'infra-rouge, peut être interprété en termes de caractères structuraux de l'échantillon irradié.

La spectrométrie dans l'infra-rouge fournit un moyen simple d'identifier de très petites quantités de substances.

Cette méthode offre un très grand intérêt dans certains problèmes toxicologiques, comme dans le cas de l'identification des insecticides organo-phosphorés. (DERKOSH J., JANSCH H., LEUTNER R. et MAYER F. [145], *Monatsh, Chem.*, 85, 684, (1954)).

Ainsi la méthode spectrophotométrique dans l'infra-rouge permet d'identifier le diméthyl et le diéthylthiophosphorique acide para-nitrophénylesther. Le diméthylesther possède une bande typique à 1185 cm^{-1} et le diéthylesther montre deux absorptions caractéristiques à 960 et 796 cm^{-1} .

Avec le perfectionnement des appareils qui ont acquis une stabilité mécanique et une simplicité d'emploi tout à fait satisfaisante, la méthode spectrophotométrique dans l'infra-rouge a pris place dans les recherches toxicologiques courantes.

II) MÉTHODES MICROCRISTALLOGRAPHIQUES.

Ces méthodes permettent une identification des dérivés barbituriques, et plusieurs auteurs donnent des réactions très précises.

O. TUNMANN [146] observe des cristaux obtenus à l'aide d'un réactif au zinc chloro-iodé.

VAN ITALLIE et VAN DER VEEN [147] examinent les cristaux fournis par addition d'un acide à la solution alcaline ou l'addition d'un sel d'ammonium solide, de préférence le phosphate.

G. DENIGÈS [148] décrit un mode opératoire minutieusement étudié et fréquemment utilisé dans la pratique, mettant à profit les propriétés utilisées par les auteurs précédents.

ISNARD [149], dans un travail sur le Dial obtient une combinaison cristalline de Dial et d'argent ; il examine également les cristaux de Dial formés par action de l'acide chlorhydrique sur la solution sodique du barbiturique.

J. BOUGAULT et J. GUILLOU [150], J. GUILLOU [151] donnent les caractères de cristaux formés après action de l'iode et du brome en milieu alcalin.

VAN ITALLIE et STEENHAUER [152] poursuivent l'identification microchimique au moyen du nitrate d'argent ammoniacal.

C. STRYZOWSKI et I. DEVERNI [153] se servent également des cristaux obtenus avec le nitrate d'argent ammoniacal pour différencier le Dial du Véronal.

III) MÉTHODES CHIMIQUES.

Les méthodes chimiques offrent une gamme de possibilités également variées.

1°) Réactions de précipitation :

Parmi les réactions proposées, certaines n'intéressant qu'un petit nombre de ces corps ne retiennent qu'une faible attention.

Ainsi, les réactions spéciales au groupe phényle de F. RANVEZ [154], GENOT [155], LOBO [156], C. EKHERT [157], au Dial de M. F. LAGARCE [158], aux dérivés allylés de FLEURY [159]. D'autres, plus générales et excellentes certes, sont trop peu sensibles ou tout au moins n'apparaissent pas susceptibles d'extension au dosage de fractions de milligrammes.

TAGLIARINI [160] emploie le nitrate mercurique pour caractériser le Véronal. Il n'y a pas lieu d'insister sur la spécificité d'un tel réactif qui précipite un très grand nombre de substances.

P. LEMAIRE [161] différencie le Proponal du Véronal par les réactions avec les alcalis, l'hypobromite, le bichlorure de mercure, le nitrate de mercure.

A. JORISSEN [162] identifie le Véronal par formation de Bleu de Prusse, de thiocyanate. Il propose également une diagnose olfactive d'acide gras volatil libéré avec toute l'incertitude de l'appréciation à laquelle ce phénomène peut donner lieu.

P. LAMY [163] utilise le chlorure mercurique et H. HANDORF effectue la réaction de la niurexide.

FLEURY [164] fait précipiter à froid par le sulfate mercurique les barbituriques disubstitués, tandis que RUPPE et K. MULLER [165] se servent des chlorure, acétate et nitrate mercuriques.

A. ZAMPARO [166] différencie les Véronal, Dial, Gardénal, par action du nitrite de sodium en milieu sulfurique.

LINDBERGER [167] utilise le carbonate de cuivre en solution alcaline.

L. EKHERT [168] propose une réaction commune aux Véronal, Proponal, Luminal, au moyen de l'aldéhyde salicylique et de l'acide sulfurique concentré, puis une différenciation par le réactif sulfo-formolé.

RISING M. et C. A. JOHNSON [169], N. V. ROMANOVA [170] forment des combinaisons doubles (sulfate de cuivre-véronal). ZWIKKER [171] indique une réaction colorée fournie par un complexe barbiturique cuivre-pyridine, dont FOUCHET [172] tire parti pour la caractérisation et l'identification en biochimie des véronalides, à l'exception du Prominal et de l'Evipan.

M. B. JONSSON [173] donne la formule d'un réactif au chlorure de cuivre, PAGET et DESODT [174] fournissent un procédé d'identification au moyen du réactif de MILLON dont FLEURY s'était servi pour les éthers dialcoylbarbituriques. Cette étude fut poursuivie par TILLY [175].

G. W. HARGREAVES et H. W. NIXON [176] signalent l'emploi du permanganate et des sels mercuriques.

VAN LEENT [177] forme des complexes du cobalt et du cuivre.

PESEZ [178] réalise un complexe spécifique par addition en milieu alcoolique (Méthanol) de réactif cobaltico-calcique et de soude avec tous les dérivés de la malonylurée, sauf ceux substitués à l'azote.

2°) Réactions colorées.

Outre tous les moyens de caractériser et d'identifier les dérivés barbituriques que nous venons rapidement de passer en revue, il existe *un groupe de réactions colorées* qui présentent l'avantage d'être plus suggestives, tout en étant d'exécution facile et instantanée ; la plupart dérivant de la réaction originale proposée par W. PARRI [179].

Travail de W. PARRI [179].

Dans sa publication consacrée aux réactions colorées du Véronal, PARRI indique la formation de sels métalliques insolubles colorés, résultant de la combinaison d'un nitroprussiate avec la phénylhydrazone de l'acide barbiturique, mais malheureusement de nombreuses phénylhydrazones fournissent de tels précipités offrant une couleur, et c'est ainsi qu'il a été amené à présenter une réaction colorée en ces termes :

« On prend un peu de solution de sel de cobalt (chlorure, nitrate) ; on traite avec quelques gouttes d'ammoniaque, en prenant garde d'éviter un excès ; on obtient un précipité gélatineux vert-bleu. Aussitôt on ajoute une pincée de Véronal et on agite. On obtient immédiatement et à froid une intense et magnifique coloration rouge tendant au violacé ; le liquide est limpide.

« La couleur vire au violet avec la quantité strictement nécessaire d'ammoniaque, et au rouge avec une quantité plus grande. Un excès de cette dernière peut rendre difficile et faire manquer la réaction ; dans ce cas le liquide prend une couleur brun-jaunâtre. La coloration disparaît par acidification, et ne réapparaît pas, malgré une neutralisation ultérieure avec l'ammoniaque.

« On obtient également une réaction d'égale intensité en mêlant le chlorure de cobalt, le véronal et ensuite l'ammoniaque. Dans l'alcool concentré, la coloration est plus intense et moins sujette à des variations sous l'influence d'un excès d'ammoniaque. Et même ceci devrait être le mode normal de la réaction ».

Nous remarquons immédiatement que PARRI ne donne aucune précision sur la concentration des réactifs, les proportions respectives à utiliser, et laisse toute latitude quant à leur ordre

d'affusion. Aussi n'est-il pas surprenant que par la suite, les auteurs aient décrit sous le nom de réaction de PARRI des modes opératoires très divers, comme nous avons pu le constater au cours de nos recherches bibliographiques.

Modifications apportées à la réaction de W. PARRI.

ZWIKKER [180] a montré qu'une coloration bleue stable est donnée par l'acide barbiturique et ses dérivés, par additions successives de chlorure de cobalt et de méthylate de baryum. Il dissout le chlorure de cobalt sec dans la solution méthylique du véronalide.

Le méthylate de baryum est obtenu en saturant l'alcool méthylique par la baryte.

BODENDORF [181] a étudié cette réaction avec des solutions dans l'alcool absolu, éthylique et méthylique de nitrate de cobalt et d'hydroxyde de potassium. Il obtient dans ces conditions une coloration rouge violacée stable pendant plusieurs heures.

PAGET et DESODT [182] ont apporté une modification à la réaction de PARRI consistant à introduire dans le milieu du cyanure de potassium. Ils obtiennent une coloration variant du rose au rouge groseille en ajoutant à la solution alcoolique du barbiturique une solution aqueuse de nitrate de cobalt et une solution de cyanure de potassium ; le tout est alors traité par l'ammoniaque dilué.

Leur mode opératoire est celui-ci :

« 2 ou 3 ml de solution alcoolique de barbiturique + une
« goutte d'azotate de cobalt à 10 p. 100 + une goutte de cya-
« nure de potassium N/10. Agiter et ajouter une goutte d'am-
« moniaque dilué au 1/10 ».

Ces auteurs donnent cette réaction comme plus stable que celle de PARRI.

KOPPANYI, MURPHY et KROP [183] caractérisent le barbiturique dissous dans le chloroforme à l'aide de l'acétate de cobalt et de la potasse ou de la baryte en solution dans l'alcool méthylique absolu.

Ces mêmes auteurs avec DILLE [184] ont essayé par la suite les hydroxydes alcalins, alcalinoterreux, l'ammoniaque, de nombreuses amines ; certaines amines leur fournissent un mi-

lieu alcalin convenable et une coloration violette très belle qui peut être stable pendant plusieurs jours, notamment dans le cas de l'*isopropylamine* sur laquelle ils ont finalement fixé leur choix.

Ils font remarquer que les amines primaires saturées sont seules propices. Avec la lithine ils opèrent ainsi :

« 0,04 mg de barbiturique en solution dans 2 ml de chloro-
« forme + 0,05 ml d'acétate de cobalt à 2 p. 1000 dans l'alcool
« méthylique absolu + 0,05 ml d'hydroxyde de lithium à 2
« p. 1000 dans l'alcool méthylique absolu ».

Ou bien avec l'*isopropylamine* :

« 0,04 mg de barbiturique en solution dans 2 ml de chloro-
« forme + 0,05 ml d'acétate de cobalt à 1 p. 1000 + 0,3 ml
« d'*isopropylamine* à 5 p. 100 dans l'alcool méthylique
« absolu ».

BOBIER [185] fait une oxydation du cobalt au moyen du pérhydrol en milieu alcalin en présence de cyanure.

LACHAUX [186] indique comme l'avait signalé W. PARRI que l'instabilité du complexe en milieu aqueux diminue en milieu alcoolique, et mieux encore, glycérolé. Cependant il ne fournit un mode opératoire qu'en milieu alcoolique :

« On arrose avec un ml de méthanol absolu qui dissout
« rapidement le véronalide ; on ajoute une goutte de solution
« méthylique récente d'acétate, de chlorure ou de nitrate de
« cobalt à 5 p. 100 et goutte à goutte une solution méthylique
« de gaz ammoniac à 3 p. 100. Il se forme instantanément une
« coloration violette ».

KOZELKA et TATUM [187] font l'étude de la réaction de PARRI avec l'éthylate de sodium comme base et une solution de nitrate de cobalt dans l'alcool éthylique absolu.

PESEZ [188] opère dans l'alcool méthylique à l'aide de réactif cobalticocalcique et de soude de la façon suivante :

« Dans un tube à centrifuger sec, on introduit quelques
« milligrammes de dérivé barbiturique et 2 à 3 ml d'alcool
« méthylique pur. Après dissolution obtenue par agitation lé-
« gère, on ajoute 2 gouttes de réactif cobalticocalcique, et
« après mélange, 1 goutte de solution sodique. Par agitation,
« on obtient une coloration puis un précipité bleu indigo ».

*Caractères de la réaction de W. PARRI.
Spécificité.*

Au sujet de la spécificité de la réaction colorée à laquelle il a donné son nom, W. PARRI écrit :

« Cette réaction n'est donnée ni par l'urée, l'uréthane, ce qui exclut que la réaction soit fournie par le groupement fonctionnel CO. Elle n'est pas donnée par le sulfonal, et vraisemblablement ni par le trional et le tétronal, ni par la caféine, l'acide urique qui contiennent le groupe carbonimide ».

Plus loin, il indique le comportement du glucose et du saccharose vis-à-vis de sa réaction et comment l'emploi, comme base, de l'ammoniaque, empêche la confusion, puisque dans ce cas le véronal seul donne la coloration violette caractéristique.

KOPPANYI, MURPHY et KROP [189] étudiant cette même question avec diverses substances à l'aide d'acétate de cobalt et de potasse dissous dans l'alcool méthylique absolu, ont trouvé que les dérivés de l'urée, comme le biuret et l'oxamide, ainsi que les composés à réaction du biuret positive, donnent la coloration violette en solution alcoolique, mais non en solution chloroformique. Il en est de même pour la créatinine, la guanine, tandis que la théophylline et la théobromine la donnent en solution chloroformique, à condition d'opérer sur des quantités relativement importantes de ces substances.

DILLE et ses collaborateurs [190] travaillant dans le même sens, essayent sans résultat l'uracile, l'alloxane, le tricarbo-nimide.

HERWICH [191] opérant selon la technique de BODENDORF se trouve en désaccord avec KOPPANYI, MURPHY et KROP, car pour lui les dérivés de la purine ne donnent pas la coloration violette et, avec DILLE, à propos de l'uracile. Il note encore qu'avec les barbituriques substitués à l'azote, la réaction est négative.

CHARONNAT et LACHAUX [192] font remarquer que d'une façon générale les résultats sont fonction du solvant constituant le milieu réactionnel et de la nature, et par conséquent de « la force » de l'alcalin utilisé.

Complétant les recherches précédentes, KOZELKA et TATUM [193] se sont appliqués à démontrer que les composés pourvus de fonctions mono et di-imides, et partant les dérivés barbitu-

riques, fournissent la réaction, mais les premiers seulement en milieu légèrement alcalin, constitué par de l'éthylate de sodium.

Plus récemment PESEZ [194] indique que son réactif cobaltocalcique décèle d'une manière spécifique les barbituriques à l'exception des dérivés N-substitués, ce qui confirme les résultats d'HERWICK à ce sujet.

LACHAUX [195], dans sa thèse particulièrement intéressante, a montré l'existence des complexes cobalteux des dérivés N-substitués mais que leur stabilité n'est réalisée qu'en milieu alcoolique anhydre. Toutefois, ils se forment en milieu chloroformique anhydre mais d'une manière épisodique.

Sensibilité.

Selon le mode opératoire suivi, la sensibilité de la réaction est très variable. Ainsi ZWIKKER [196] dans les conditions que nous avons rapportées précédemment obtient une coloration encore assez sensible pour 0,5 mg de Véronal ; l'opération effectuée à blanc lui donne une teinte jaune sale. BODENDORF décèle 1 mg et même moins de dérivé barbiturique. Pour KOPPANYI, MURPHY et KROP, la plus petite quantité donnant une réaction positive est 0,1 mg. Ces auteurs atteignent avec DILLE la sensibilité de 0,04 mg.

DESODT [197], pratiquant la réaction de W. PARRI, selon le mode opératoire adopté généralement :

« 1 ml de solution alcoolique de barbiturique + 1 goutte
« d'ammoniaque au 1/10 obtient une coloration mauve. Elle
« n'est stable et nette qu'à partir de 7 mg de Véronal et 8 mg
« de Gardénal et de Dial ».

Selon la technique de PAGET-DESODT [198] au cyanure double de cobalt et de potassium :

« Les Gardénal, Dial, Véronal, Rutonal, etc... donnent encore
« des colorations, certes fugaces, mais cependant observables
« à des dilutions qui ne réagissent plus à l'azote de cobalt
« pur (4/10, 5/10, 6/10 mg) ».

La réaction pratiquée par PESEZ permet de connaître la présence de 5/10 de Gardénal et de 1 mg de Véronal.

Intensité de la coloration.

KOPPANYI, MURPHY et KROP [199] ont observé que l'intensité de la coloration obtenue par leur mode opératoire est proportionnelle à la fraction de malonylurée mise en jeu ou, ce qui

revient au même, inversement proportionnelle au poids moléculaire pour des quantités égales de divers barbituriques. Cependant, le Phanodorme, le Phénobarbital et l'Ortal feraient exception à cette règle.

KOZELKA et TATUM ont montré que l'intensité de la coloration produite pour une quantité donnée d'un di-imide est fonction des quantités de nitrate de cobalt et d'éthylate de sodium. Cette intensité augmente rapidement pour des quantités croissantes de cobalt et de base jusqu'à un maximum auquel elle se maintient.

Ils montrent que les mono-imides demandent deux fois plus de cobalt et d'éthylate pour atteindre le maximum d'intensité, lequel est précisément le double de celui obtenu avec des di-imides.

H. GRIFFON et R. LE BRETON [200], après une étude systématique des facteurs influençant la réaction, tant du point de vue de sa sensibilité, que relativement à sa stabilité et à son rendement, ont proposé le mode opératoire suivant :

« Le résidu de l'extraction de l'urine ou du sang, obtenu
« comme il a été dit précédemment, est additionné de 1 ml
« d'alcool absolu, dans lequel il se dissout complètement. On
« ajoute ensuite, dans l'ordre, 1 ml de solution dans l'alcool
« absolu de nitrate de cobalt à 0,01 M (0 g, 29 %) et 1 ml de
« solution dans l'alcool absolu de diéthylamine 3 M. (21,9 g ou
« 31 ml % de diéthylamine).

Le mélange prend instantanément une teinte violette plus
« ou moins intense. Ces quantités de réactifs donnent une
« réaction très nette à partir de 1/10 de mg des différents
« barbituriques. Le milieu réactionnel est parfaitement lim-
« pide, quelle que soit la quantité de barbiturique, et se rap-
« proche à ce point de vue de celui qu'on obtient avec l'isopro-
« pylamine ».

L'étude de la stabilité de la réaction et de son rendement colorimétrique a été faite pour les dérivés barbituriques suivants :

1 Barbituriques à substitution aliphatique et cyclique : Véronal, Gardénal, Rutonal, Sonéryl, Dial, Phanodorme.

2° Barbituriques N-substitués : Prominal et Evipan.

Les courbes de l'évolution de la densité optique, en fonction du temps, révèlent que la réaction acquiert dès le début son

maximum d'intensité, qu'elle est très stable, pendant au moins 30 minutes, et qu'elle évolue d'une manière sensiblement identique pour tous les barbituriques essayés du type Véronal.

Par contre, elle est relativement très fugace pour les dérivés N-substitués, la stabilité de la réaction étant plus faible pour l'Evipan que pour le Prominal.

La méthode permet de doser des prises de 0,1 mg à 10 mg des divers barbituriques du type Véronal en solution pure, avec une erreur ne dépassant pas ± 2 %.

En ce qui concerne les dérivés N-substitués, le dosage est également possible avec la même précision, en ayant soin de pratiquer la mesure au bout de trente secondes.

CHAPITRE III.

CAS D'INTOXICATIONS PAR SUBSTANCES ORGANIQUES.

Les cas d'intoxications par substances organiques que nous avons rencontrés dans notre pratique ont comporté non seulement l'examen toxicologique des prélèvements effectués sur des sujets vivants et des cadavres mais aussi celui de très nombreux produits industriels, agricoles, pharmaceutiques et d'hygiène. Parmi ces derniers produits nous ne retiendrons dans le présent travail que les stupéfiants possédant un intérêt thérapeutique : l'opium et ses dérivés, la cocaïne. Les examens toxicologiques effectués en vue de déceler des substances organiques dans les milieux biologiques ou des organes se sont révélés positifs dans 425 cas. Les examens de substances ont montré dans 195 cas la présence de substances à propriétés stupéfiantes sans tenir compte des échantillons de Cannabis Sativa totalement interdit depuis 1957. La présentation détaillée de ces 620 cas ne peut être réalisée dans le cadre de cette thèse, aussi allons-nous les envisager groupés par catégories en choisissant dans chacune d'elle quelques cas typiques.

La classification suivie est celle basée sur le mode habituel d'extraction des poisons car elle apparaît, bien que peu satisfaisante, comme étant la plus rationnelle pour un tel exposé.

Dans la marche générale de recherches des poisons la distillation à la vapeur d'eau a permis de mettre en évidence un certain nombre de fois les produits suivants :

Hexachlorocyclohexane	3
Composés organo-phosphorés (P.A.C. etc.)	14
Dinitro-4-6-0 Crésol (Elipol)	1
Apiol	2

La méthode générale d'extraction des poisons organiques de STAS-OTTO a révélé les intoxications suivantes :

Pour « l'éther acide » :

Dérivés de l'acide barbiturique	255
Chloralose	2
Dérivés aminés du propane (Ortédrine, Maxiton)	3
3-Phényl-3-Ethyl-2-6-Dioxopipéridine (Doridène)	3
Acide acétylsalicylique (Aspirine)	5
Acide salicylique	1
Salicylate basique d'aluminium (Alunozal)	2
Dérivés sulfamidés	9
Digitaline	4
Cantharidine	1
Colchicine	1
Coumarine	2
Exachloro-hexahydrodiendométhylène-naphtalène (Aldrine)	2
Carbamate de méthyl 3 pentyne 1 ol 3 (N'Obli-von)	1

Pour « l'éther et le chloroforme alcalins » :

Substances de nature alcaloïdique non identifiées	29
Nicotine	3
Strychnine	33
Quinine	12
Sulfate de (diéthylamino-4'-méthyl-1')butylamino-4-chloro-7-quinoléine (Nivaquine)	15
Phénothiazine	13
Antipyrine	1
Di(amidino-4'-phénoxy) 1,5 pentane (Lomidine)	1
Chlorhydrate de N-(γ diméthylamino-propyliminodibenzyle) Tofranil	2
Chlorhydrate de 3 méthylmercapto-10 (2'-(N méthyl pipéridyl 2'') éthyl 1' phénothiazine (Melleril)	1
Morphine	4

Les substances stupéifiantes soumises à un examen se rapportent à :

Opium	86
Morphine	24
Chlorhydrate de diacétylmorphine (Héroïne)...	83
Cocaïne	2

I. — CAS D'INTOXICATIONS ÉTUDIÉS CHEZ DES SUJETS VIVANTS.

Les cas les plus fréquents d'empoisonnements n'aboutissant pas à la mort sont de loin aujourd'hui grâce aux nouvelles techniques de traitement ceux occasionnés par les dérivés barbituriques. Nous n'avons pas relevé ces observations bien connues cliniquement et dont la mise en évidence par le laboratoire relativement facile a été étudiée en détail dans les chapitres précédents. Nous rapporterons dans cette catégorie d'intoxications trois exemples de types différents : Maxiton, Nicotine, Antipyrine.

1°) Maxiton.

Les dérivés aminés du propane tels les sels de la Phénylisopropylamine utilisés en thérapeutique pour leur action sympathicomimétique sont non seulement des moyens de suicide mais de toxicomanie surtout depuis la présentation sous formes injectables. Au cours d'une tentative de suicide par ingestion de comprimés de Maxiton, nous avons pu mettre en évidence ce produit qui pose un problème d'identification très difficile par la méthode chimique grâce à la méthode spectrophotométrique d'absorption dans l'ultra-violet. Le spectre fig. 1 est caractérisé par des maxima d'absorption : 252,5 — 258 — 264 et des minima d'absorption : 238,5 — 254,5 — 262 mμ.

L'examen est réalisé dans l'acide chlorhydrique au 1/20. Les opérations d'extraction et d'identification spectrophotométrique peuvent être conduites en moins d'une heure sur le liquide de lavage gastrique ou sur le sang par la méthode de H. GRIFFON et R. LE BRETON.

2°) Nicotine.

La Nicotine, alcaloïde du tabac qui est du point de vue chimique α pyridil β N méthyl pyrrolidine est utilisée comme insecticide sous forme de préparations titrées. La Nicotine provoque des intoxications surtout accidentelles et suicides. Ces intoxications sont généralement mortelles car il suffit de 100 mg de Nicotine pour tuer un adulte. Parfois, des vomissements immédiats sauvent le sujet. Ainsi une femme absorbe dans le but de se suicider quelques gorgées d'une préparation insecti-

cide titrée à 8 % de Nicotine. Prise de vomissements elle boit du lait et est conduite immédiatement dans un service hospitalier spécialisé. La connaissance de la nature de la préparation ingérée a permis de traiter immédiatement la malade.

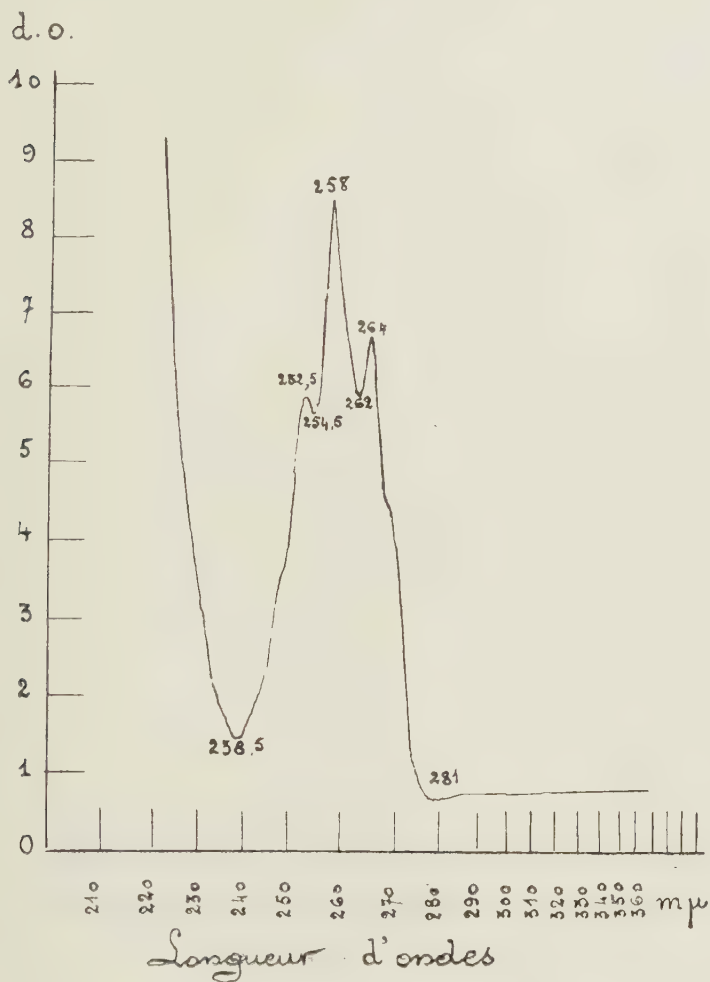


FIG. 1. — Spectre dans l'U.V. du Maxiton
Tartrate de phényl-1 amino-2 propane.

La confirmation de l'identité du toxique en cause a été effectuée en moins d'une heure sur les vomissements. Il s'agissait d'un liquide caillé de réaction acide au tournesol, la distillation par entraînement à la vapeur d'eau après alcalinisa-

tion au moyen de la soude a fourni un distillat à réaction alcaline. Ce distillat présentait des réactions de précipitation avec les réactifs généraux des alcaloïdes. L'action de l'acide

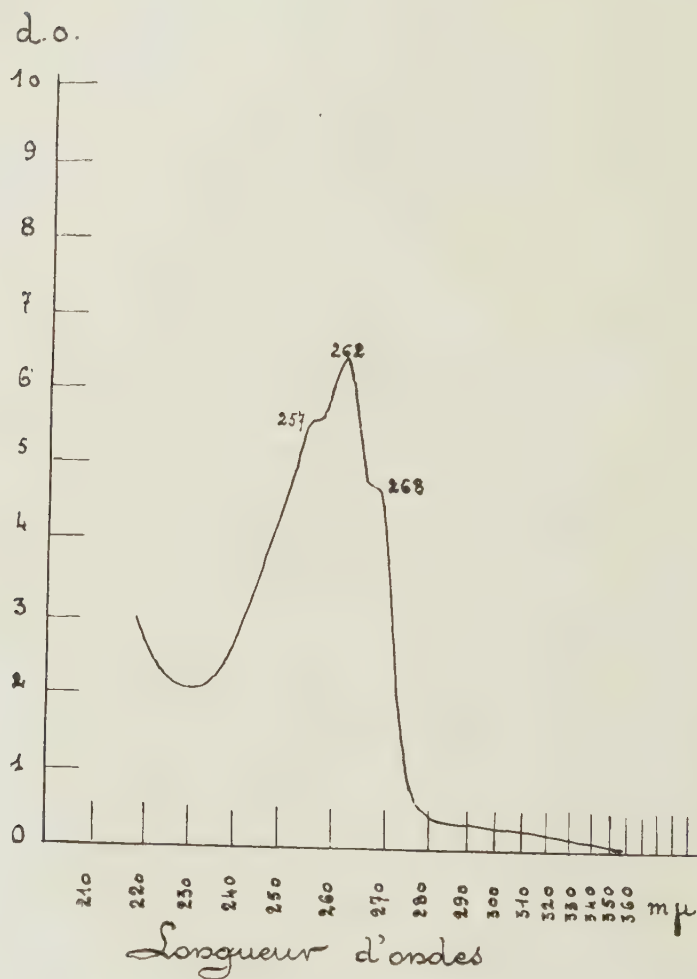


FIG. 2. — Spectre dans l'U.V. du distillat de vomissement après ingestion de nicotine.

picrique engendrait des cristaux de forme caractéristique. L'examen spectrophotométrique dans l'ultra-violet du distillat alcalin (0,5 N) a montré un spectre fig. 2 caractérisé par des

maxima d'absorption à 257-262-268 $m\mu$ et un minimum d'absorption à 240 $m\mu$. Un spectre témoin de Nicotine pure fig. 3 effectué dans les mêmes conditions a montré les carac-

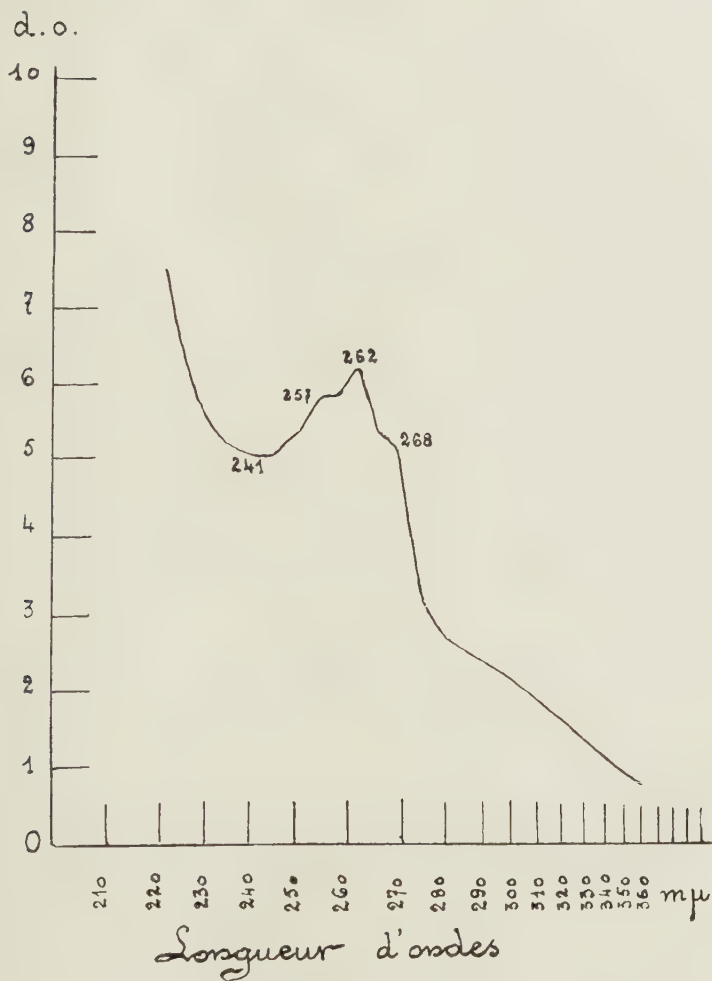


FIG. 3. — Spectre dans l'U.V. de la nicotine.

téristiques suivantes : maxima d'absorption à 257-262-268 $m\mu$, minimum d'absorption 241 $m\mu$. Ces spectres sont comparables.

3°) Antipyrine.

L'Antipyrine ou diméthyl-2-3-phényl-1-isopyrazolone employé comme antipyrétique et analgésique est relativement peu toxique puisque la dose léthale pour l'homme est d'environ 1,5 g à 2 g par kilogramme. Tout à fait exceptionnellement il est observé des intoxications graves par suite d'une erreur : ainsi celle-ci consistant dans l'administration à un enfant de 7 ans, d'un lavement contenant 30 g d'Antipyrine. Après une courte période de vive agitation le coma s'est installé. Une exsanguino-transfusion pratiquée in-extremis a rétabli la situation. L'effet fut immédiat et spectaculaire, l'état de l'enfant s'améliora au cours même de l'opération.

Lorsque l'on a la certitude d'une intoxication massive, l'exsanguino-transfusion, pratiquée le plus tôt possible durant la période trompeuse « de latence » alors que tous les signes cliniques ne sont pas encore patents, se révèle un moyen thérapeutique remarquable.

L'examen toxicologique du sang a été effectué par la méthode de STAS-OTTO et par la technique rapide de lixiviation exécutée en milieu alcalin par le chloroforme.

La méthode de STAS-OTTO a montré que le sang retiré au début de l'exsanguino renfermait une substance qui évaluée pondéralement s'élevait à la teneur de 180 milligrammes par litre.

L'identification a été réalisée par les méthodes physiques, chimiques et spectrophotométriques.

La substance extraite du sang se présente sous forme cristallisée en longues aiguilles blanches et soyeuses. Le point de fusion est à 114°.

Les réactions de précipitation avec les réactifs généraux des alcoïdes sont positives ainsi que les suivantes, spécifiques :

— obtention d'une coloration verte due à la formation de nitroso-antipyrine sous l'action du nitrite de sodium en milieu acide ;

— production d'une coloration rouge résultant de la formation de ferripyrine sous l'action du chlorure ferrique.

L'étude spectrophotométrique dans l'ultra-violet des zones d'absorption pour la solution alcoolique a montré la présence de :

- 2 maximum d'absorption située à 245 m μ et 271 m μ ;
- 2 minimum d'absorption situés à 234 m μ et 256 m μ .

Le spectre a été comparé à celui obtenu avec une solution alcoolique d'Antipyrine témoin à 16 γ par litre. Les points caractéristiques de la courbe sont les mêmes.

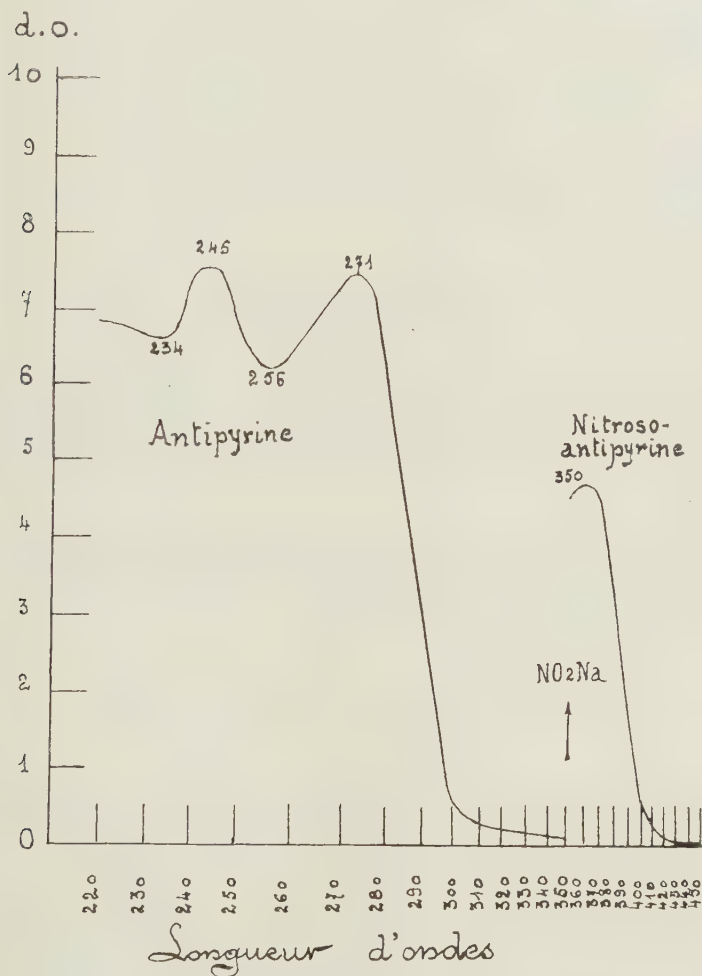


FIG. 4. — Spectre dans l'U.V. de l'antipyrine et de la nitroso-antipyrine.

Enfin l'étude de l'absorption de la solution à la longueur d'onde 350 $\mu\mu$ avant et après formation de nitriso-antipyrine. En effet l'augmentation de l'absorption, à cette longueur d'onde donnée, est en rapport avec la concentration d'Antipyrine dans la solution.

La méthode spectrophotométrique d'absorption dans l'ultra-violet peut être présentée comme une technique à utiliser en vue d'un diagnostic rapide. Ainsi dans le cas rapporté ci-dessus, la réalisation des spectres a été effectuée en moins d'une demi-heure.

D'autre part, pour qui possède un certain nombre de spectres de référence, ce temps peut être réduit de moitié : d'où l'intérêt d'avoir une gamme étendue de spectres étalons, en particulier ceux des si nombreux médicaments nouveaux.

Les spectres fig. 4 obtenus avec l'Antipyrine extraite du sang de l'enfant figurent ci-dessus.

II. — CAS D'INTOXICATIONS ÉTUDIÉS SUR DES CADAVRES.

Nous envisagerons en premier lieu des poisons entraîna- bles par la vapeur d'eau tels les insecticides : Hexachlorocyclohexane ou H.C.H., dérivés organo-phosphorés (Parathion), un amaigrissant (Dinitrocrésol), une essence réputée abortive (Apiol).

En second lieu nous traiterons de cas d'intoxications par des poisons organiques fixes extractibles par la méthode de STAS-OTTO et retrouvés, soit dans l'éther acide, soit dans l'éther et le chloroforme alcalins.

A) Poisons entraîna- bles par la vapeur d'eau.

1°) *Hexachlorocyclohexane.*

L'H.C.H. peut exister sous forme de dix isomères dont cinq d'entre eux sont connus. L'isomère γ est le plus toxique, il tue la mouche à la dose de 0,2 γ et la DL50 du rat est de 0,19 g par kg. L'H.C.H. ne semble pas nocif pour l'homme et les animaux supérieurs dans les conditions normales d'utilisation. Son caractère de volatilité le fait utiliser en fumigations dans les serres, les locaux d'habitation, les tentes de campeurs. Pour ces derniers usages il est présenté sous forme d'allumettes-tisons qui peuvent être à l'origine d'accidents chez les enfants qui les sucent, fait non exceptionnel. Ces tisons sont constitués par des bâtonnets du type utilisé pour fabriquer des allumettes sur lesquels se trouve une substance d'un poids d'environ 0,7 g. Cette substance est essentiellement constituée par l'Hexachlorocyclohexane (0,11 g), du chlorate de potassium, du carbonate de chaux aggloméré par des corps réducteurs.

L'H.C.H. est un produit inscrit au tableau C des substances vénéneuses non destinées à la médecine. Ses préparations sont également inscrites au tableau C des substances vénéneuses quand elles en renferment plus de 50 %.

Dans le cas des tisons la concentration d'H.C.H. n'atteint pas cette limite de 50 % et en conséquence ces produits ne sont pas inscrits au tableau C des substances vénéneuses. Il n'en existe pas moins un danger pour les enfants qui peuvent sucer ces allumettes aussi le fabricant ne devrait-il pas utiliser la mention « sans danger » qui pour beaucoup d'utilisateurs s'entend en toutes circonstances et non spécialement dans les conditions de l'usage indiqué. Les fabricants qui vendent des préparations de composition secrète pour l'usage domestique sans signaler tous les dangers qu'elles peuvent présenter agissent imprudemment. Si les composants étaient nommément désignés des personnes compétentes pourraient donner des conseils lorsque l'on a la notion de l'ingestion d'un produit déterminé, mais le secret gardé par le fabricant met l'utilisateur dans l'impossibilité de se renseigner sur les éventuels dangers des produits utilisés.

Les préparations insecticides à base d'H.C.H. sont utilisées comme moyen de suicide. Dans un cas il s'agissait de Lindamul, solution à 12 % de Lindane dans un mélange de carbure, et dans un autre cas de Synexa, émulsion à 15 % d'isomère d'H.C.H.

Dans les deux cas l'ingestion a été environ d'un verre ordinaire.

Les recherches toxicologiques pratiquées sur les organes ont permis de mettre en évidence dans le produit d'entraînement à la vapeur d'eau du chlore sous forme volatile et du benzène après réduction selon les méthodes colorimétriques habituelles à la méthyléthylcétone.

Ces opérations peuvent être conduites en deux heures sur un liquide de lavage gastrique et par conséquent apporter une confirmation de la nature de l'empoisonnement dans un délai encore utile.

2°) Dérivés organo-phosphorés.

Parmi les dérivés organo-phosphorés utilisés comme insecticides le Thiophosphate de 0 diéthyle et 0 paranitrophényle est le plus répandu en France. Il est désigné par différents voca-

bles : Parathion, P.A.C., S.N.P., E 605. Les préparations que nous avons examinées sont : Sopra 605, Bladan 605, Phosphémol, Toxaphis, poudre K.B. Sur 9 cas de suicide observés, 4 étaient dus à l'ingestion de Toxaphis ; sur 6 accidents, 4 étaient en rapport avec un usage professionnel dont 2 concernaient des apprentis horticulteurs. Nous avons un cas de méprise à la suite de l'introduction d'une solution de Parathion dans une bouteille de Madère. Nous y reviendrons car les circonstances sont bien connues. En outre nous avons eu à effectuer des recherches dans un cas de forte suspicion de crime, et un cas de crime.

Le Parathion est un poison très violent, la DL per os pour le rat est de 10 mg/kg ; pour l'homme d'environ 4 mg/kg.

Le Parathion est un liquide dont la volatilité est utilisée pour l'extraire des milieux biologiques par entraînement à la vapeur d'eau. Les quantités extraites sont généralement faibles étant donné l'extrême toxicité de ce produit et sa transformation métabolique en para-aminophénol et dérivés soufrés minéraux.

La recherche toxicologique s'effectue sur les produits d'entraînement à la vapeur d'eau des contenus gastriques, du sang, des viscères.

Le phosphore volatil est mis en évidence sous forme de l'ion phosphorique par le réactif molybdique à chaud après hydrolyse en milieu nitrique.

Le groupement nitrophényl permet d'obtenir un azoïque coloré en rose après réduction, diazotation et copulation avec la N α naphtylène éthylènediamine.

L'examen spectrophotométrique dans l'ultra-violet montre un maximum d'absorption à 280 m μ (fig. 5).

Parmi les cas observés nous en retiendrons deux qui apportent des renseignements, le premier sur la dose qui peut tuer, le second sur les difficultés de la mise en évidence de l'intoxication par le Parathion.

La première observation est celle d'une femme qui a absorbé strictement la moitié d'un flacon de Toxaphis ; ce flacon d'une capacité de 24 ml contient une solution à 4 % de Parathion ce qui représente une quantité très proche de 1 gramme. Il a donc suffi de 0,50 g de Parathion pour entraîner la mort d'une femme et cela en moins d'une heure.

La deuxième observation est celle d'un homme de 56 ans qui porte à la bouche pour y goûter une bouteille plate étiquetée « Madère » renfermant en fait une solution à 12 % de Parathion. La bouteille transmise est à peine entamée, le liquide arrivant au ras d'un court goulot ; le sujet se rendant compte

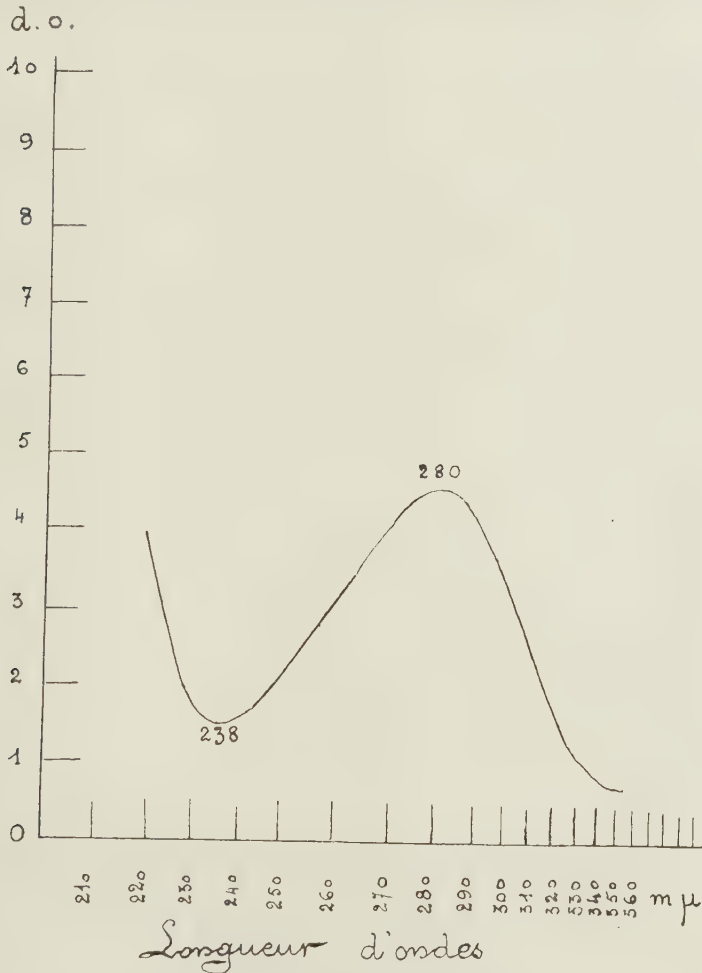


FIG. 5. — Spectre dans l'U.V. du parathion.

immédiatement de son erreur au mauvais goût du liquide crache et boit du lait. Il sort pour promener ses chiens et en revenant est pris de malaise il est capable d'expliquer ce qui lui est arrivé mais au bout de deux heures il entre dans le coma et il meurt à la 11^e heure.

Les résultats des recherches toxicologiques dans ce dernier cas sont particulièrement importants pour l'interprétation dans d'autres affaires.

Il n'a pas été possible de mettre en évidence de phosphore volatil dans les distillats de 40 ml de sang et 700 g de viscères.

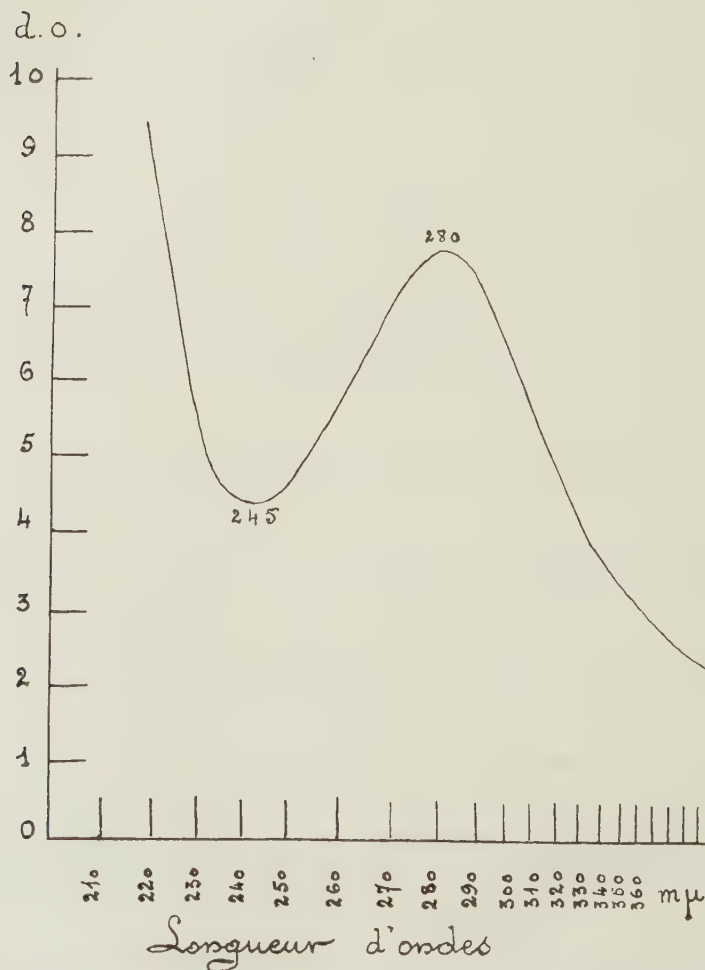


Fig. 6. — Spectre dans l'U.V. du parathion extrait des viscères.

Il a été décelé dans le distillat des viscères la présence du groupement nitrophényl par la réaction colorée précitée, mais l'intensité de cette réaction était très faible.

Il a été obtenu dans les distillats du sang et des viscères fig. 6 des spectres dans l'ultra-violet identiques caractérisés par un minimum d'absorption à $245\text{ m}\mu$ et un maximum d'absorption à $281\text{ m}\mu$, ces spectres étant comparables à ceux du Parathion de la bouteille fig. 7 et d'un Parathion témoin.

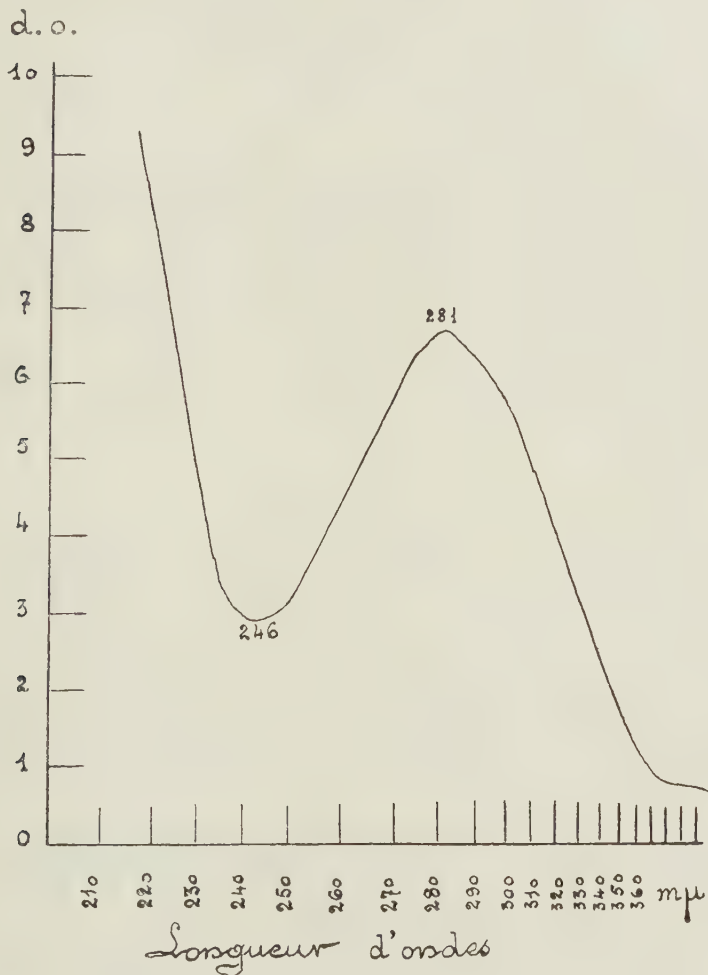


FIG. 7. — Spectre dans l'U.V. du parathion d'une solution commerciale à 12 %.

Cette observation soulève les remarques suivantes :

Le décès du sujet est dû en toute certitude à l'ingestion déclarée par le sujet lui-même d'un liquide qui s'est avéré à l'analyse être du Parathion.

Le tableau clinique et les constatations d'autopsie sont en accord avec une telle intoxication.

Cependant les résultats de l'examen toxicologique se limitent à l'obtention de spectres comparables à celui du Parathion pour les distillats du sang et des viscères. En effet, outre que la recherche du Phosphore volatil a été négative, la recherche du groupement nitré n'a conduit qu'à une coloration rose de faible intensité que l'on ne peut pas interpréter car certains distillats donnent une telle coloration par simple diazotation et copulation.

L'existence d'une petite quantité d'un groupement nitré en présence du groupement aminé n'est pas toujours possible à mettre en évidence car il peut ne pas se produire d'accroissement de l'intensité de la coloration après réduction cette dernière opération provoquant très souvent un abaissement de l'intensité de la teinte due au groupement aminé.

La présente observation montre combien il peut être difficile d'établir la réalité d'une intoxication par le Parathion lorsque l'on ne possède pas de renseignements sur les circonstances de la mort.

3°) *Dinitrocrésol.*

Les accidents ou suicides chez les jeunes femmes par les dérivés nitrés utilisés pour l'amaigrissement sont fréquents.

Nous rapporterons une observation d'une collégienne qui avait à sa disposition plus de 4 boîtes de la spécialité pharmaceutique Elipol (Dinitro-4-6-Orthocrésol) par suite de la complaisance d'un pharmacien. Il s'agit de comprimés dragéifiés dosés à 7,5 mg de Dinitro-Orthocrésol appartenant comme tous les Dinitro-Phénols au tableau C de la Législation des substances vénéneuses. Il n'a pas été possible de connaître la quantité absorbée ni le moment exact de l'ingestion mais il semble d'après des recoupements que la mort est survenue dans un délai proche de trois heures.

Les recherches toxicologiques d'ordres chimique et physique ont porté sur les distillats du sang et des viscères.

Les recherches chimiques ont visé à mettre en évidence la fonction phénol et la fonction nitrée.

La caractérisation de la fonction phénol a été effectuée au moyen de la 2-6-dibromo-1-4-quinone-chlorimide dont la réaction colorée s'est prêtée à un dosage.

La fonction nitrée a été identifiée par réduction, diazotation, et copulation. Cette réaction a permis également de faire des dosages colorimétriques.

La quantité d'Elipol ainsi retrouvée dans l'échantillon moyen des viscères a été de 200 mg par kilo.

Ce dosage a été également réalisé par un procédé purement physique, la méthode spectrophotométrique d'absorption dans l'ultraviolet qui a fourni une valeur légèrement supérieure.

Toutefois la concordance des méthodes est bonne car certaines constatations expérimentales font penser qu'il pourrait ne pas en être ainsi. En effet, l'Elipol par suite des phénomènes de métabolisme est transformé ; les fonctions phénol et nitrée sur lesquelles sont basés les dosages disparaissent indépendamment l'une de l'autre. Les spectres d'absorption dans l'ultra-violet de l'Elipol pur et de l'Elipol réduit ou acidifié sont différents comme le montrent les valeurs d'absorption suivantes :

	Elipol pur		Elipol réduit ou acidifié	
Minimum		250 253 m μ	240 243 m μ	
Maximum		266 272 m μ	273 276 m μ	
Minimum		312 315 m μ		
Maximum		376 m μ		

Dans le cas des viscères qui avaient été acidifiés le produit retrouvé dans le distillat obtenu par entraînement à la vapeur d'eau possède un spectre similaire à celui de l'Elipol acidifié avec minimum d'absorption à 243, 244 m μ et maximum à 278 m μ .

Il faut remarquer comme il est habituel en toxicologie que la quantité retrouvée 200 mg par kilo représente un minimum par suite des phénomènes métaboliques. Cette quantité décelée ne permet pas de déduire celle qui a été effectivement ingérée, mais cette dernière était au moins égale à 0,5 g pour la totalité des viscères. Il s'agit-là d'une dose élevée puisque l'Elipol est prescrit à raison d'un comprimé dosé à 7,5 mg par 10 kg de poids corporel, soit pour un sujet de 70 kg, une quantité de 52,5 mg. La quantité d'Elipol décelée dans le cas présent est donc environ 10 fois supérieure à la dose thérapeutique préconisée par le fabricant.

L'ingestion de telles doses de dérivés nitrés des phénols détermine un syndrome toxique caractérisé essentiellement par de l'hyperthermie et de la polypnée. Le sujet présente peu de temps après l'ingestion surtout à jeun des céphalées et des sueurs puis surviennent des nausées ou vomissements avec douleurs précordiales et abdominales. Le rythme respiratoire s'accélère, il apparaît un état d'agitation et de la congestion du visage. La température est très élevée, 40° et plus au moment de l'entrée dans le coma.

Cette affaire est particulièrement intéressante car elle a été dévoilée par l'examen toxicologique, la découverte de groupements phénol et nitré dans les viscères a conduit à un supplément d'enquête qui a permis de retrouver les emballages du produit en cause et d'expliquer la mort.

4°) *Apiol.*

L'Apiol, retiré des graines de persil, est considéré comme possédant des propriétés emménagogues d'où la réputation d'abortif.

Les révélations d'intoxication par l'Apiol au cours des tentatives d'avortement sont rares bien qu'il soit encore fabriqué un assez grand nombre de capsules de ce produit sans utilité thérapeutique. Cela tient à la difficulté de mettre en évidence ce produit dans le cadavre la mort survenant par hépatonéphrite plusieurs jours après l'ingestion.

Dans deux cas nous avons eu l'occasion de caractériser l'Apiol par une réaction chimique et l'essai physiologique sur la grenouille.

L'Apiol donne une coloration vert-émeraude par l'acide sulfurique en présence d'acide gallique. L'Apiol détermine une paralysie chez la grenouille.

L'essai physiologique sur la corne utérine de cobayes vierges n'est pas un bon témoin de la présence d'Apiol car beaucoup d'Apiols du commerce ne déterminent pas d'action sur la fibre musculaire utérine bien que cela ait été écrit.

B) Poisons retrouvés dans « l'éther acide » de la méthode de Stas-Otto.

La méthode de STAS-OTTO et ses dérivés permettent l'extraction des poisons organiques fixes. Parmi eux les cas les plus nombreux sont représentés par les dérivés barbituriques.

1°) *Dérivés de l'acide barbiturique.*

Les intoxications par les dérivés de l'acide barbiturique sont connues depuis fort longtemps et restent les plus nombreuses malgré l'apparition d'autres hypnotiques. Nous avons fait l'analyse de 255 cas de cette nature. Il s'agit-là surtout de suicides mais aussi d'accidents survenant avec des doses progressivement accrues par des malades insomniaques. Il faut ajouter le nombre grandissant de toxicomanes qui s'adressent aux dérivés barbituriques injectables à titre unique mais le plus souvent pour compléter l'action d'autres stupéfiants. Par ordre décroissant, les cas d'intoxication par les dérivés barbituriques que nous avons étudiés sont : Gardénal, Sonéryl, Eunocet, Imménocet, Nesdonal, Nembutal, Séconal, Phanodorme, Per-nocton.

Très souvent les dérivés barbituriques sont associés à d'autres toxiques comme l'oxyde de carbone, les phénothiazines. Une association très fréquente dans les cadavres est celle avec l'alcool éthylique ce qui peut s'expliquer par le danger de l'action simultanée de ces toxiques.

Nous avons étudié dans les chapitres précédents, avec le plus grand détail, les méthodes d'extraction et d'identification des hypnotiques barbituriques aussi n'ajouterons-nous que la méthode spectrophotométrique de dosage présentée par L. R. GOLDBAUM [201]. Pour cet auteur les courbes spectrales dans l'U.V. obtenues en opérant en solution fortement alcaline et en solution à pH 10,5 présentent des différences caractéristiques à certaines longueurs d'onde comprises entre 228 m μ et 270 m μ .

Une partie de l'extrait sanguin, urinaire ou viscéral est dissoute dans le chloroforme et épuisée à l'aide d'une solution de soude 0,45 N. La solution sodique est séparée et centrifugée puis examinée au spectrophotomètre pour détermination de la densité optique. D'autre part une portion de la solution est amenée à pH 10,5 en l'additionnant d'une solution tampon renfermant par litre une molécule d'acide borique et une molécule de chlorure de potassium. On procède à une nouvelle détermination des densités optiques pour les longueurs d'onde de 228 à 270 m μ ; en cas de présence d'un dérivé barbiturique les différences des densités optiques sont caractéristiques. Les

chiffres trouvés sont comparés aux valeurs données par GOLDBAUM. Pour les extraits urinaires il est trouvé des chiffres très proches de ceux obtenus par les dérivés barbituriques purs mais pour les extraits viscéraux il n'en est pas toujours ainsi.

2°) *Chloralose.*

Le Chloralose ou glucochloral est utilisé comme hypnogène et corvicide. Des intoxications s'observent dans des suicides ou des tentatives d'empoisonnements.

Ainsi un homme de 70 ans présente après avoir absorbé volontairement des grains de blé empoisonnés, des tremblements, puis un coma incomplet avec hyperexcitabilité aux chocs, des crises convulsives et meurt au 3^e jour.

Dans un autre cas il s'agit d'une tentative d'empoisonnement avec un produit dénommé « grains La Mortora » (grains de blé empoisonnés) par introduction dans un cassoulet.

La recherche du chloralose s'effectue sans difficulté dans le sang les urines et les viscères ; le résidu d'extraction est soumis à la réaction à la soude pyridine après oxydation périodique : il est ainsi obtenu une coloration rose qui se prête à un dosage colorimétrique. Dans l'un des cas d'intoxication la teneur en Chloralose du sang était de 50 mg par litre.

Le Chloralose détermine des accidents graves chez l'adulte pour des doses de 1 g à 1,50 g ce qui représente le contenu des tubes de comprimés du commerce, 2 à 3 grammes de Chloralose peuvent entraîner la mort ce qui justifie l'inscription au tableau C de la Législation des substances vénéneuses.

3°) *Phényl-1-amino-2-propane, et dérivés.*

L'abus des amines sympathico-mimétiques entraîne des accidents mortels comme nous en avons observés dans l'Ortédrine, ou sulfate de phénylisopropylamine.

L'extraction n'offre pas de particularité et l'identification partielle s'effectue comme nous l'avons vu précédemment pour le Maxiton par spectrophotométrie d'absorption dans l'ultra-violet.

Le spectre de l'Ortédrine présente un maximum d'absorption à 236 mμ et un minimum à 227 mμ.

4°) 3-phényl-3-éthyl-2-6-dioxopipéridine.

Le Doridène est présenté comme un hypnogène doux et exempt d'effets secondaires. Le Doridène agit rapidement, en 20 à 30 minutes après l'absorption, le sommeil obtenu n'est pas agité ni exagérément profond ; cependant il a été utilisé avec succès dans certaines tentatives de suicide. Dans de tels cas il est ingéré deux à trois boîtes de 20 comprimés chacune, ces comprimés étant dosés à 0,25 g.

La recherche s'effectue par une réaction colorée communiquée par les Laboratoires Ciba. Cette réaction consiste à additionner le résidu d'évaporation de 1 ml d'alcool absolu pour dissoudre le résidu et 1 ml de solution d'hydroxylamine 2 M et de 1 ml de solution d'hydroxyde de sodium 3,5. N. Après mélange on laisse le résidu réactionnel à température ambiante pendant 30 minutes. On ajoute ensuite 1 ml d'acide chlorhydrique 3,5 M et on mélange. On additionne enfin 1 ml de réactif au perchlorure de fer (0,37 M) dans de l'acide chlorhydrique 0,1 N.

Cette technique appliquée sur le sang, l'échantillon moyen des organes et certains organes a donné les résultats suivants :

- sang : 120 mg par litre ;
- foie : 250 mg par kilo ;
- rein : 200 mg par kilo ;
- échantillon moyen des organes : 160 mg par kilo.

Dans un autre cas l'échantillon moyen des organes ne renfermait que 39 mg par kilo de Doridène.

La méthode spectrophotométrique d'absorption dans l'ultraviolet en milieu méthylique permet de reconnaître trois minima situés respectivement à 250, 256, 263 m μ et trois maxima situés respectivement à 254, 260 et 264 m μ .

Ces résultats sont toujours vérifiés par un essai physiologique sur la souris et qui consiste à injecter une fraction du résidu d'extraction par l'éther en milieu acide dans le péritoine d'une souris blanche d'un poids de 20 g. L'animal qui est primitivement vif présente après quelques instants une attitude extrêmement calme puis il s'assoupit ; cet état peut durer plusieurs heures révélant la présence d'une substance hypnotique dans le résidu examiné.

5°) *Acide acétylsalicylique ou Aspirine.*

Les intoxications par l'Aspirine ont surtout pour cause le suicide. Les recherches toxicologiques aboutissent à la mise en évidence d'Aspirine en nature et d'acide salicylique provenant de sa dégradation. L'acide salicylique est facilement caractérisé par la réaction au perchlorure de fer qui fournit une coloration violette très sensible se prêtant à un dosage colorimétrique. L'Aspirine en nature est déterminé dans un second temps par hydrolyse en milieu alcalin et caractérisation de l'acide salicylique en milieu acide par le perchlorure de fer.

Les quantités retrouvées sont très variables, ainsi dans un cas d'intoxication par 90 comprimés d'Aspirine à 0,50 g il a été dosé 200 mg d'Aspirine par litre de sang, la mort étant survenue environ douze heures après l'ingestion.

La méthode spectrophotométrique dans l'ultra-violet montre deux maxima d'absorption à 225 m μ et 278 m μ et un minimum à 264,5 m μ .

6°) *Acide salicylique.*

L'acide salicylique possède des propriétés fébrifuges et anti-névralgiques mais il n'est utilisé que comme kératolytique car il est très irritant pour la muqueuse gastrique déterminant non seulement des crampes et des vomissements mais même des hématoméses ; l'acide salicylique provoque des néphrites très graves.

La recherche de l'acide salicylique s'effectue comme nous l'avons vu précédemment ; la caractérisation peut comporter en outre la réalisation du spectre d'absorption dans l'ultra-violet qui présente des maxima d'absorption à 234,5 m μ et un minimum à 258 m μ .

7°) *Salicylate basique d'aluminium (Alunozal).*

L'Alunozal utilisé dans certaines diarrhées est présenté comme un médicament sans danger. L'Alunozal est le salicylate basique d'aluminium qui renferme 68,8 % d'acide salicylique et 26,5 % d'alumine anhydre. Le salicylate basique d'aluminium a la propriété de libérer lentement de l'acide salicylique sous l'action de l'eau à froid, la réaction du milieu devenant acide et l'oxyde d'alumine formé restant en suspension. Cette libération d'acide salicylique est accélérée par l'acide chlorhy-

drique dilué comme c'est le cas dans l'estomac. Dans les conditions similaires à celles de la digestion gastrique normale, l'hydrolyse est complète en 24 heures. Dans les cas d'hyperchlorhydrie la vitesse d'hydrolyse est certainement très accélérée. La libération progressive de l'acide salicylique assure ainsi une action microbicide plus ou moins prolongée.

Dans les cas de diarrhée acide, l'acide salicylique libre agit directement sur la muqueuse intestinale. L'acide salicylique est un antiseptique très actif et les salicylates alcalins ont également une action antiseptique.

Cette transformation dans le tube digestif du salicylate basique d'aluminium explique son action énergique. L'acide salicylique, agent microbicide actif et l'alumine aux propriétés adsorbantes font du salicylate bi-basique d'aluminium un modificateur de l'état de la muqueuse intestinale. Cette modification consiste en une combinaison avec les éléments de la muqueuse de l'intestin. Le salicylate bi-basique d'alumine possède une affinité pour les matières albuminoïdes exerçant ainsi à la surface de la muqueuse intestinale un effet de resserrement et de condensation des tissus. Par suite de la combinaison avec les matières albuminoïdes, il se forme à la surface des tissus une véritable couche protectrice. Les albumines des tissus qui entrent dans la combinaison insoluble avec le salicylate basique d'alumine sont détruites mais cette action s'exerçant en surface la régénération des cellules se fait rapidement. Pour qu'une action nécrosante se manifeste il faut que la couche insoluble reste sur place un certain temps au lieu d'être entraînée. L'action astringente du salicylate basique d'alumine a été montrée par ROCHAS dans des expériences sur le chien. Dans une première anse intestinale isolée il est injecté une quantité déterminée de solution de sulfate de magnésie. Dans la seconde anse il est introduit la même quantité de sulfate de magnésie mais aussi du salicylate d'alumine. Dans la première anse le volume liquidien s'accroît par pénétration de l'eau de l'organisme alors que dans la seconde anse le volume diminue car le salicylate d'alumine s'oppose au passage des liquides de l'organisme dans la cavité intestinale mais n'empêche pas l'absorption en sens inverse. Cette expérience explique le passage dans l'organisme de l'acide salicylique libéré dans l'intestin. Mais l'acide salicylique est un irritant des cellules, en particulier il peut entraîner des lésions des épithéliums des tubes rénaux et il détermine à doses trop fortes un syndrome d'acido-cétose.

C'est dans ce cas que se sont trouvés deux enfants soumis à des doses manifestement supérieures à celles utilisées habituellement. Les concentrations en acide salicylique du sang se sont trouvés être de 80 mg et 90 mg par litre ; dans les viscères de chacun d'eux il a été trouvé une cinquantaine de milligrammes d'acide salicylique par kilo, ce qui représente une imprégnation considérable.

L'examen histologique du parenchyme rénal a montré une altération profonde des tubés urinaires et une assez bonne conservation des glomérules.

Cette altération s'est traduite pour l'un des enfants par une élévation de son urée sanguine à 0,75 g par litre. Les deux enfants avaient présenté un accident brusque consistant en oppression, nausées, vomissements, hyperpnée croissante, coma entrecoupé de délire, de convulsions, élévation de température, acétonurie et augmentation de l'urée sanguine. Ces signes cliniques sont en accord avec les résultats toxicologiques et histologiques et permettent de conclure à une intoxication salicylée en rapport avec l'ingestion d'Alunozal.

Ces deux accidents montrent que l'Alunozal est considéré à tort comme un médicament sans danger.

8°) *Dérivés sulfamidés.*

Les sulfamides intéressent le toxicologue à un double titre ; ils provoquent encore des accidents d'ordre thérapeutique par erreur de conduite du traitement et ils peuvent perturber les recherches des substances extraites par l'éther en milieu acide.

Depuis le début de leur utilisation les techniques de dosage dans les milieux biologiques ont été mises au point et ont donné entière satisfaction dans tous les laboratoires d'analyses médicales. Leur application à la recherche des sulfamides dans les organes n'offre pas de difficulté aussi n'apparaît-il pas nécessaire de les rappeler ici.

9°) *Digitaline.*

La Digitaline, un des principes actifs de la digitale, provoque des accidents thérapeutiques par accumulation, mais les cas qui aboutissent au toxicologue sont essentiellement les suicides. Cette dernière circonstance permet d'espérer l'obtention des réactions chimiques qui nécessitent une assez grande quantité de substance. De toute manière les réactions chimiques ne

sont pas déterminantes et la meilleure méthode de recherche consiste à mettre en évidence l'action sur le cœur de grenouille du résidu de l'éther acide. Cependant, en général, les quantités de Digitaline susceptibles d'être extraites sont minimales. Comme par ailleurs la Digitaline est très faiblement soluble dans l'éther il est préférable quand les renseignements orientent vers un empoisonnement par les digitaliques d'apporter quelques modifications à la méthode générale d'extraction de STAS-OTTO. L'échantillon de viscères sera surtout constitué par du cœur, du foie, des reins et dans la technique d'extraction l'éther sera remplacé par le benzène.

Les réactions chimiques sont exceptionnellement praticables, non seulement par défaut de substance, mais aussi par la présence d'impuretés qui gênent l'apparition de couleurs caractéristiques.

Les réactions physiologiques sont beaucoup plus sûres tout en nécessitant une quantité bien moindre de substance. L'épreuve physiologique se fait de préférence par perfusion du cœur isolé de la grenouille, mais se pratique aussi par imbibition du cœur in situ. Sous l'action de la Digitaline on note une première phase caractérisée par l'augmentation du volume des ondes sanguines, puis un ralentissement des contractions bientôt suivi d'une phase arythmique précédant l'arrêt des contractions ventriculaires.

10°) *Cantharidine*.

La Cantharidine est le principe actif contenu dans les cantharides, insectes coléoptères désignés sous le nom de *Lytta-Vesicatoria*. Les préparations pharmaceutiques à base de Cantharide ont causé de nombreux accidents dus, tantôt à l'absorption de doses excessives de poudre ou de teinture de Cantharide prises en raison de leurs effets aphrodisiaques ou tantôt à l'emploi comme agent révulsif dans les vésicatoires. Nous avons observé un cas d'intoxication d'un homme de 77 ans par l'ingestion de 2 g de poudre de Cantharides. La poudre de Cantharide présente des dangers particuliers, même à petite dose, en raison des effets locaux que peut déterminer l'adhérence de parcelles de poudre en certains points du tube digestif. La Cantharidine provoque une néphrite épithéliale et des suffusions sanguines tout au long de l'arbre urinaire.

La mise en évidence des fragments d'élitre dans le contenu du tube digestif se fait facilement à la lumière qui permet d'apercevoir des paillettes brillantes mordorées. L'identification de la Cantharidine est réalisée par l'examen au microscope de cristaux prismatiques et de lamelles hexagonales, et par l'action vésicante sur la peau de la face antérieure de l'avant-bras. Cette réaction physiologique a, outre l'avantage de sa sensibilité, celui de ne pas nécessiter une purification complète du résidu.

11°) *Colchicine.*

La Colchicine retirée de la colchique provoque des accidents d'ordre thérapeutique, mais les cas de mort sont représentés par des suicides. La Colchicine est un glucoside qui présente la particularité de se retrouver dans l'éther acide et dans l'éther et le chloroforme alcalins ; les réactions chimiques s'obtiennent commodément :

— avec l'acide nitrique, coloration violette passant au rouge orangé par addition de potasse ;

— avec le sulfovanadate d'ammoniaque, coloration vert olive fugace ;

— avec l'acide sulfurique et un cristal de nitrate de potassium, coloration bleue fugace.

L'expérimentation physiologique sur la grenouille permet de reconnaître une tétanisation musculaire.

12°) *Coumarine.*

Les dérivés de la Coumarine sont utilisés comme raticides en raison de leurs propriétés anticoagulantes vis-à-vis du sang. Les observations que nous avons faites se rapportent au coumachlore 3 α β Chlorophényl Acétyl-4-hydroxycoumarine.

Dans un cas la mort est survenue après ingestion volontaire d'un mélange de Tomorin à 1 % de coumachlore et Ratilan à 0,025 % de coumachlore.

L'examen toxicologique des viscères a permis de retrouver le coumachlore ; la recherche chimique a été effectuée par la réaction à la Vanilline-chlorhydrique par formation d'un colorant azoïque utilisant la xyloidine.

La recherche physiologique a consisté à imprégner chaque jour les pattes avant d'une souris blanche, l'animal, en se léchant pour se nettoyer, a absorbé le produit et au 10^e jour la mort est survenue dans un état hémorragipare.

L'examen spectrophotométrique dans l'ultra-violet a montré le spectre ci-contre caractérisé par un maxima d'absorption à 310 $m\mu$ et un minimum à 260 $m\mu$ (fig. 8).

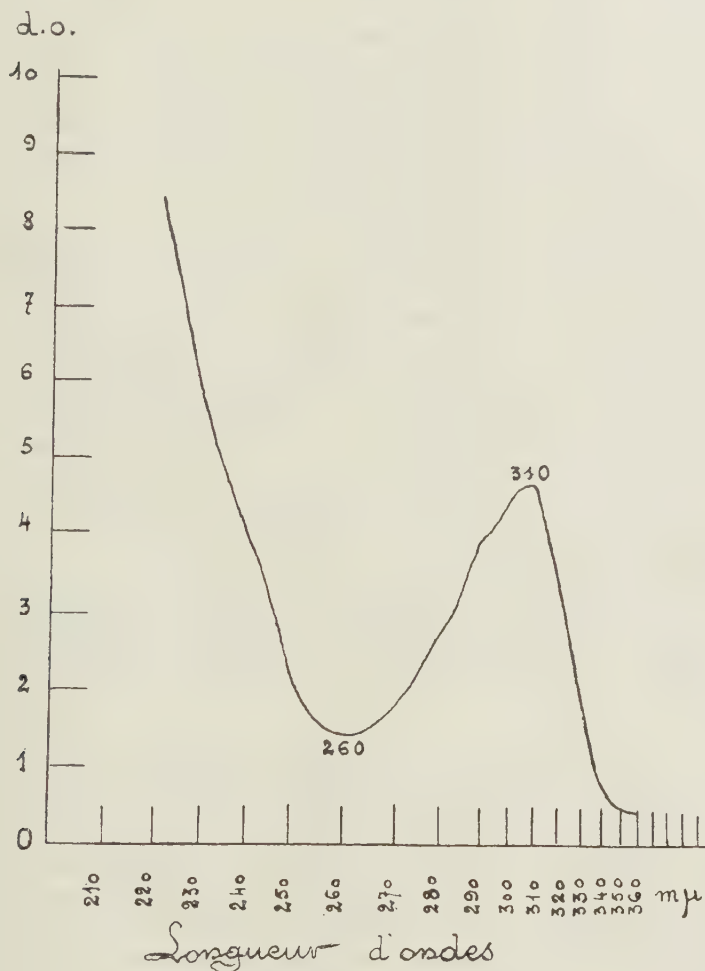


FIG. 8. — Spectre dans l'U.V. du Coumachlore
3(α -p-chlorophényl- β acétyléthyl) 4-hydroxicoumarine.

Il faut remarquer qu'à la suite de l'intoxication par le coumachlore le sang est très fluide et d'un rouge particulièrement vif pouvant faire penser à une intoxication oxycarbonée mais l'examen spectroscopique montre qu'il n'en est rien.

Cette observation est intéressante car le coumachlore et la Warfarine sont considérés comme pratiquement sans danger pour l'homme qui serait par contre très sensible à l'action du Dicoumarol.

Les rats qui absorbent quotidiennement 10 mg de Dicoumarol meurent en 14 jours, la dose accumulée étant de 56 mg par kilo. Les doses léthales par ingestion unique de Warfarine sont de 20 à 50 mg/kg pour le chat, de 20 à 25 mg/kg pour le chien et le porc. Les dérivés de la Coumarine présentent donc des dangers pour les animaux domestiques.

13°) *Hexachlorohexahydrodiendo-méthylène-naphtalène*
(Aldrine).

L'Aldrine est un composé chimique de synthèse chloré utilisé comme insecticide à la concentration de 5 %. Présenté sous forme d'une poudre offrant les caractères morphologiques de la farine. L'Aldrine peut conduire à des méprises comme dans les cas que nous avons observés.

L'Aldrine est une substance extrêmement toxique, la DL 50 pour le rat étant de 40 à 50 mg par kilo, pour l'homme elle se placerait entre 50 et 100 mg.

Les symptômes de l'intoxication aiguë sont essentiellement dominés par des signes nerveux : excitation, convulsions, secousses musculaires, opisthotonos, la mort survient après une phase comateuse.

La caractérisation de l'Aldrine est délicate et laborieuse lorsqu'il s'agit de l'identifier dans un résidu d'extraction des viscères. Il est impossible d'obtenir un état de pureté permettant la détermination du point de fusion (90°). Il n'existe pas de méthode pratique de caractérisation et de dosage de l'Aldrine car celle proposée par DANISH et LIDOV est longue, délicate et coûteuse. La méthode chimique permet de rechercher le chlore dissimulé à tous les réactifs du chlore directement ionisé. L'action de l'acide nitrique fumant permet de libérer le chlore et d'obtenir avec le nitrate d'argent un précipité de chlorure d'argent.

En l'absence de réaction chimique déterminante, l'essai physiologique prend toute son importance. Le résidu de l'éther acide émulsionné est introduit à l'aide d'une sonde spéciale dans l'estomac d'une souris d'un poids de 20 g. Au bout d'une demi-heure la souris présente des tremblements et est très

excitée surtout sous l'influence des chocs et présente des convulsions périodiques. L'animal présente ce tableau pendant 3 ou 4 heures puis se rétablit ; cette action physiologique obtenue avec l'extrait de l'éther acide est comparable à celle observée à la suite de l'action de l'Aldrine.

14°) *N'Oblivon.*

Le N'Oblivon est un médicament spécialisé utilisé pour ses propriétés tranquillisantes et dont on a trouvé des emballages vides chez une femme décédée subitement à son domicile.

Il s'agit d'un dérivé de synthèse appartenant à la série chimique des alcools tertiaires acétyléniques le carbamate de méthyl-3-pentine-1-ol-3 présenté pour la forme dragées, en tubes de 30 dosées à 0,10 g chacune de principe actif.

Cette substance ne possède pas de réaction colorée sensible connue. Son dosage non spécifique s'effectue par une méthode volumétrique s'appliquant à une prise d'essai de 100 mg de produit pur, mettant en œuvre la formation d'un acétylure d'argent à partir du nitrate d'argent avec libération d'acide nitrique titré acidimétriquement.

Il est pour l'instant simplement possible de reconnaître les propriétés physiologiques sur la souris blanche. L'administration par sonde gastrique provoque rapidement une action tranquillisante puis plonge l'animal dans un coma caractérisé par une respiration haletante avec accélération du rythme cardio-respiratoire.

C) Poisons retrouvés dans l'« éther acide et le chloroforme alcalins » de la méthode Stas-Otto.

Parmi les substances extraites dans ces conditions se trouvent les alcaloïdes des plantes toxiques, et depuis quelques années un grand nombre de substances de synthèse utilisées en thérapeutique. Leur identification longtemps tentée au moyen de réactions chimiques et surtout de procédés physiologiques pose un problème qui ne peut pas être résolu dans tous les cas même avec l'emploi des nouvelles méthodes physiques.

1°) *Substances de nature alcaloïdique non identifiées.*

Il est fréquent qu'un résidu de nature alcaloïdique ne puisse être identifié. En effet la quantité extraite n'est bien souvent que de l'ordre de quelques milligrammes ce qui interdit

d'effectuer certaines réactions chimiques, en tous cas plusieurs réactions. De plus, malgré les purifications, des substances étrangères accompagnant la plupart du temps l'alcaloïde rendent l'identification incertaine. En outre, les phénomènes métaboliques ont partiellement transformé l'alcaloïde en corps voisins mais de propriétés réactionnelles différentes. Il ressort de l'ensemble de ces faits que le diagnostic d'un alcaloïde extrait des viscères est difficile. Si l'on ajoute que beaucoup de nouvelles substances organiques de synthèse possèdent des propriétés d'extraction et de caractérisation communes avec les alcaloïdes on ne sera pas étonné que cette catégorie de résultats soit importante et surtout en accroissement constant.

Les réactions chimiques n'étant pas d'un grand secours dans de pareils cas et les propriétés physiologiques fréquemment communes pour des corps différents du point de vue chimique, ce sont les procédés physiques qui fourniront les plus grandes possibilités d'identification en particulier la spectrophotométrie d'absorption.

Nous donnerons deux exemples de substances médicamenteuses pouvant laisser suspecter l'empoisonnement par un alcaloïde lorsqu'on ne met en pratique que les anciennes méthodes de la toxicologie. L'emploi de la spectrophotométrie d'absorption donne dans beaucoup de cas des indications qui permettent d'aiguiller l'enquête.

Ainsi pour la Tétracycline il sera trouvé des maxima d'absorption à 275 et 360 m μ et des minima à 236 et 302 m μ (fig. 9).

Pour le Taractan ou 2-chloro-9 (diméthylamino propylidène) thioxantène, il est observé des maxima d'absorption à 229, 270 et 328 m μ et des minima d'absorption à 216, 250, 310 m μ (fig. 10).

Nous donnons la représentation de ces spectres ci-après.

2°) *Nicotine.*

Nous avons traité précédemment du diagnostic par les moyens du laboratoire d'une intoxication par la Nicotine chez un sujet vivant. Ce cas a montré combien il était avantageux de se servir de la volatilité de la Nicotine pour l'extraire. Malgré tout la Nicotine se retrouve également dans les résidus alcalins de la méthode de STAS-OTTO.

Dans trois cas de suicide nous avons ainsi mis en évidence la Nicotine par les moyens précités.

Les quantités extraites ont permis de réaliser outre la micro-cristalloscopie et les réactions générales des alcaloïdes une série d'essais physiologiques.

Pour la grenouille, l'injection de doses croissantes permet de distinguer deux effets ; à faible dose, après une ou deux minutes, les genoux de l'animal montent progressivement sur

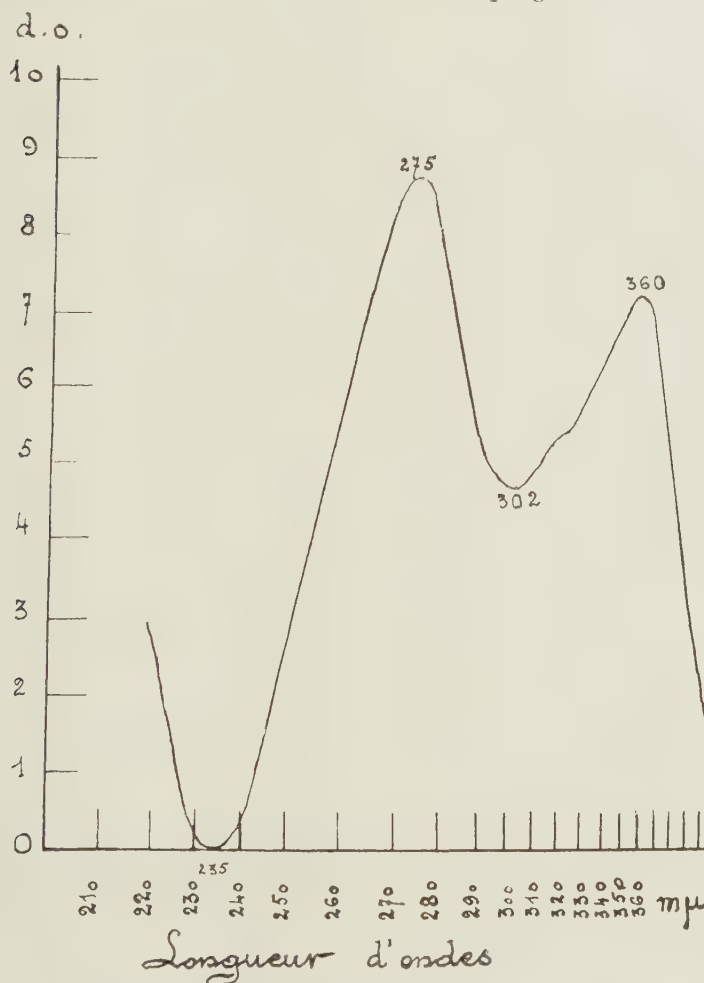


FIG. 9. — Spectre dans l'U.V. de la Tétracycline.

son dos, alors que les pattes antérieures se rabattent sur le thorax. A plus forte dose il n'apparaît pas de contracture mais la mort survient en quelques secondes dans un état de flaccidité complète.

Pour le vairon l'addition de traces du résidu alcaloïdique à l'eau du bocal détermine rapidement la mort.

Pour le cobaye l'injection intra-péritonéale de 100 mg de résidu émulsionné dans du soluté isotonique de chlorure de sodium provoque la mort en 5 minutes.

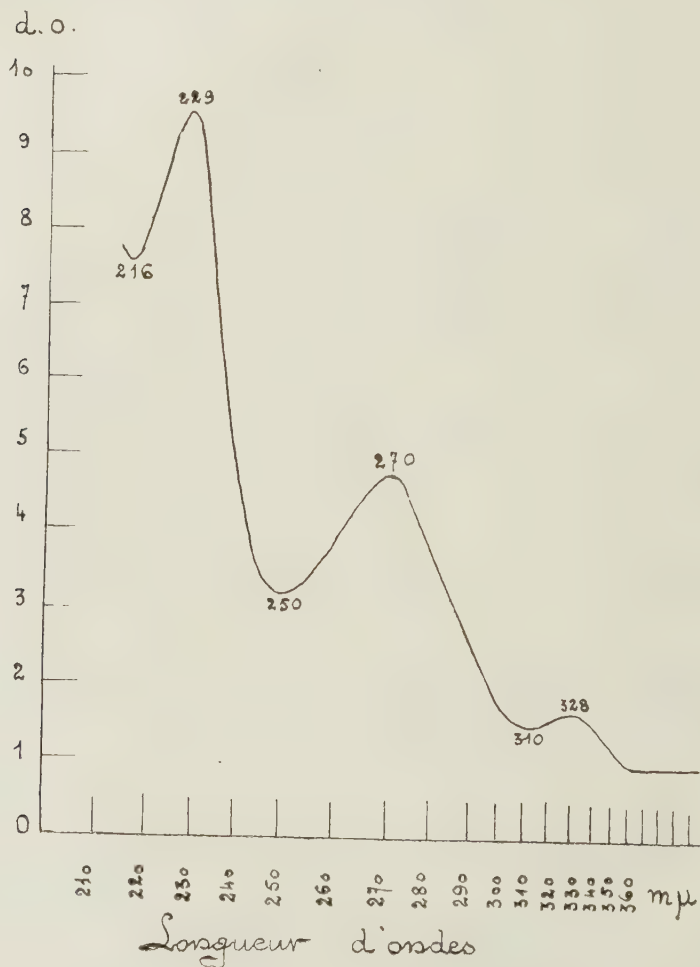


FIG. 10. — Spectre dans l'U.V. du Taractan
2-chloro-9(γ diméthylamino-propylidène) thioxanthène.

Il faut signaler que la chromatographie sur papier réalise non seulement un bon moyen d'identification mais aussi de séparation des produits de métabolisme.

3°) *Strychnine*.

Les intoxications dues à la Strychnine, principal alcaloïde de la noix vomique et de la fève de St. Ignace, sont relativement fréquentes puisque nous avons étudié 33 cas de cette nature. Ces intoxications sont essentiellement provoquées par des préparations destinées à la destruction des rongeurs : grains de blé ou de maïs, viande, imprégnés de Strychnine. Les empoisonnements accidentels sont assez rares ; nous avons surtout affaire à des empoisonnements intentionnels qui se partagent à peu près également en crimes et suicides. Les criminels parviennent souvent à leurs fins malgré la forte amertume de la Strychnine, mais il arrive aussi que cette propriété dévoile le crime. Les candidats au suicide utilisent souvent la Strychnine réputée à juste titre fort efficace. La Strychnine peut tuer un adulte à la dose de 50 mg et en l'absence de vomissements la Strychnine tue certainement à la dose de 100 mg.

L'extraction de la Strychnine mérite quelques remarques car elle offre un comportement particulier. Le dégraissage par l'éther de pétrole de la solution aqueuse tartrique obtenue après les précipitations successives par l'alcool conduit à des pertes sensibles aussi ne doit-il pas être trop poussé. Bien que le bicarbonate de sodium ne précipite pas la Strychnine qui reste dissoute grâce à l'excès d'anhydride carbonique, le chloroforme extrait la totalité de la Strychnine.

La Strychnine présente, outre les réactions générales des alcaloïdes, deux réactions spécifiques :

a) l'addition d'acide sulfurique et d'une parcelle de bichromate de potassium fournit une coloration violette intense ;

b) la réaction hydro-strychnique de DENIGÈS qui consiste à réduire par l'hydrogène naissant et à oxyder par le nitrite de sodium donne une coloration rouge qui se prête à un dosage colorimétrique.

La strychnine présente un spectre d'absorption comportant un fort maximum à 255 m μ de faibles maxima à 273, 278, 288 m μ et un minimum à 234 m μ .

Ces procédés de caractérisation doivent toujours être confirmés par l'expérimentation physiologique qui comprend :

— un essai de gustation car l'amertume de la Strychnine est très forte ;

— un essai sur le vairon qui montre une érection des nageoires surtout dorsales ;

— un essai sur la grenouille qui permet d'observer des fibrillations au niveau des doigts, des réactions vives aux chocs, des courbes caractéristiques des enregistrements des contractions des gastrocnémiens lors des excitations électriques ou mécaniques ;

— enfin, un essai sur la souris blanche qui, les poils hérissés, réagit aux excitations mécaniques et sonores.

La Strychnine résiste parfaitement à la putréfaction et dans des cas nous avons pu l'identifier après plusieurs mois d'inhumation dont l'un ancien de 18 mois.

4°) *Quinine.*

Bien que la toxicité de la Quinine ne soit pas élevée il existe un certain nombre de suicides et accidents puisque nous en avons étudiés 12. Fréquemment il s'agit de femmes ayant pris de fortes doses dans un but abortif.

Des quantités de 12 à 20 g peuvent entraîner un coma complet avec état de collapsus cardio-vasculaire entraînant la mort.

La Quinine se retrouve dans les urines, dans le sang et dans les viscères.

Dans ces différents milieux la Quinine est extraite par la méthode de STAS-OTTO ou par la méthode de lixiviation au chloroforme.

La recherche de la Quinine s'effectue par les essais suivants :

a) l'extrait alcaloïdique traité par l'acide sulfurique dilué présente en lumière de Wood une fluorescence bleue très caractéristique ;

b) la réaction de l'érythroquinine est réalisée de la façon suivante : une partie de l'extrait est dissoute dans l'acide sulfurique puis on ajoute de l'eau saturée de brome, du ferrocyanure de potassium puis de l'ammoniaque il se forme une coloration rouge qui peut être rassemblée dans le chloroforme ;

c) la méthode spectrophotométrique montre des maxima d'absorption pour 276, 334 m μ et des minima d'absorption pour 253, 301 et 326 m μ .

Un tel spectre figure ci-après (fig. 11).

5°) *Nivaquine*.

Les intoxications par la *Nivaquine* surviennent dans les mêmes conditions que celles dues à la *Quinine* : suicides et tentatives d'avortement. A 15 reprises nous avons décelé de

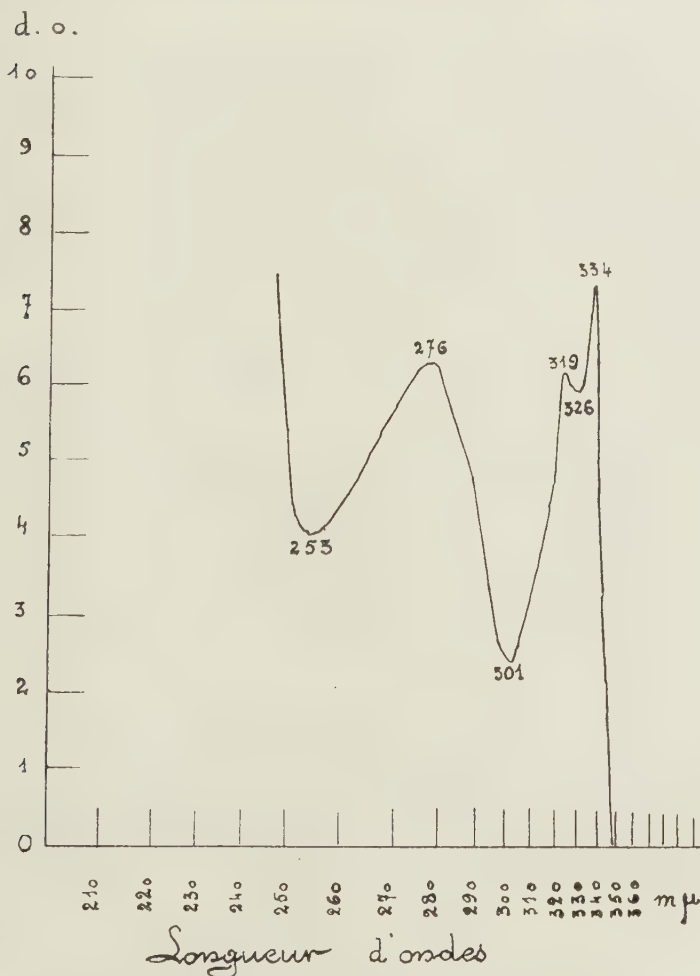


FIG. 11. — Spectre dans l'U.V. du sulfate de Quinine.

la *Nivaquine* dans les viscères, chez des coloniaux, hommes ou femmes ou chez des amis de militaires dotés à leur retour d'Outre-Mer d'une réserve importante de *Nivaquine*, sans nécessité et sans contrôle médical. L'extraction de la *Nivaquine*

s'opère à partir des urines, du sang, des viscères par la méthode de STAS-OTTO ou par la méthode de lixiviation au chloroforme.

Le résidu dissous dans l'acide sulfurique dilué présente en lumière de Wood une fluorescence verte différente de celle de la Quinine.

La solution sulfurique du résidu précipite par les réactifs généraux des alcaloïdes. Les réactions d'identité particulières des alcaloïdes ne montrent pas la présence de l'un d'eux mais l'addition d'acide sulfurique pur et de bichromate de potassium donne une coloration orangée. Le résidu dissous dans l'acide sulfurique dilué précipite par le molybdate de sodium. Ces réactions chimiques ne permettent pas de caractériser la Nivaquine pas plus que l'essai physiologique, aussi faut-il procéder à une étude polarographique et à une étude spectrophotométrique.

L'étude polarographique d'une solution de 0,1 mg par ml du résidu alcaloïdique dans l'alcool méthylique en présence de chlorure de lithium montre l'existence d'une vague dont le potentiel de demi-palier est de -1,15 v. Un essai similaire pratiqué avec la base obtenue à partir de la Nivaquine fournit une vague strictement identique, tant au point de vue du potentiel de demi-palier que de celui de la hauteur.

La méthode spectrophotométrique dans l'ultra-violet montre des maxima d'absorption pour 237, 258, 332, 345 m μ et des minima d'absorption pour 230, 244, 285, 339 m μ , pour la Nivaquine pure.

Le spectre de la Nivaquine figure ci-après (fig. 12).

En ce qui concerne la Nivaquine extraite des viscères il existe de petites différences mais dans l'ensemble le spectre est parfaitement reconnaissable. A titre d'exemple nous présentons deux enregistrements de Nivaquine extraite à partir des viscères.

Ci-après deux spectres extraits d'alcaloïdes B et G (fig. 13 et 14).

6°) *Dérivés de la Phénothiazine.*

En dehors des accidents dus à des abus de posologie et dont nous avons relevé 13 cas les dérivés de la Phénothiazine sont rencontrés de plus en plus souvent dans les résidus alcaloïdiques des viscères de sujets décédés pour des causes variées en raison de la faveur des médications :

- . neuroplégique au Largactil ou chlorpromazine,
- . anti-histaminique au Phénergan ou prométhazine,
- . neuroleptique au Nozinan ou lévomépromazine,
- . antiparkinsonienne au Parsidol ou isothazine,
- . antispasmodique au Lispamol ou aminopromazine.

d.o.

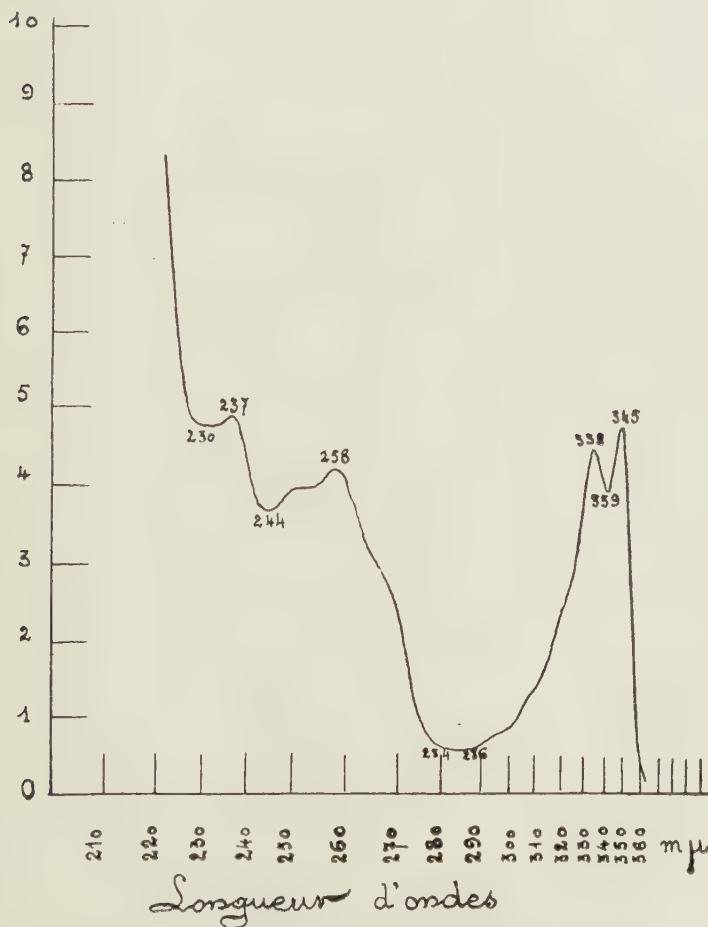


FIG. 12. — Spectre dans l'U.V. de la Nivaquine
(diéthylamino-4' méthyl-1' butyl) amino-4 chloro-7 quinoléine, sulfate.

Les réactions chimiques de caractérisation de ces médicaments ne sont pas déterminantes, ainsi le Largactil pourrait faire croire à la présence de Strychnine dans la pratique de la réaction hydrostrychnique de DENIGÈS. Une observation minu-

lieuse montre que dès l'addition d'acide chlorhydrique il apparaît une teinte rose, et lors de la réduction cette teinte disparaît ; au moment de l'addition de nitrite de sodium la réapparition de la teinte rose pourrait faire croire à la présence de Strychnine mais dans le cas de Largactil la teinte est fugace.

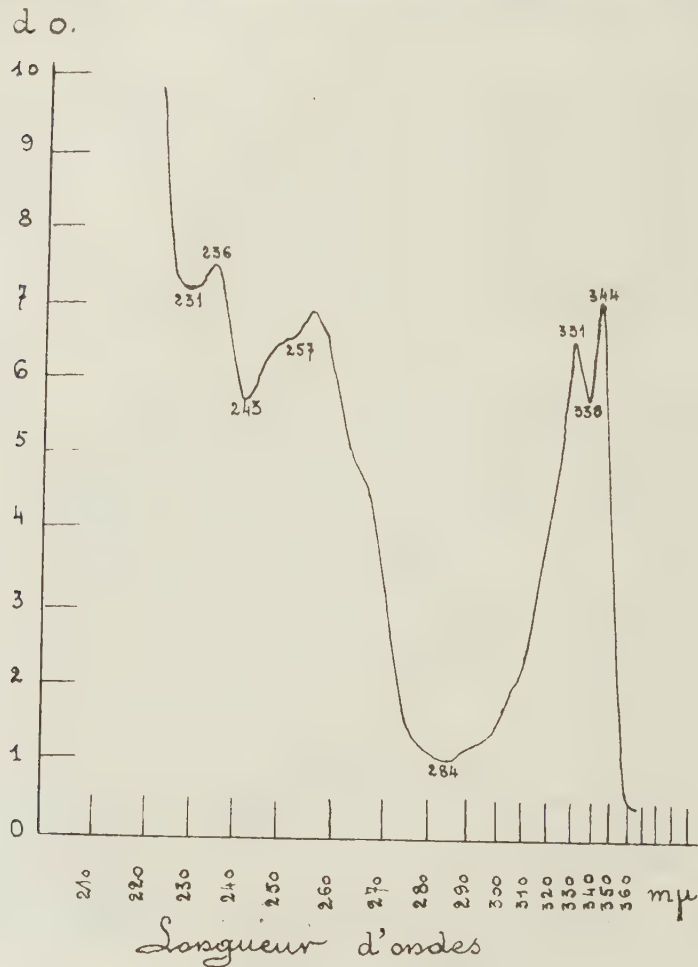


Fig. 13. — Spectre dans l'U.V. d'un extrait de viscères renfermant de la Nivaquine.

Dans ces conditions la méthode spectrophotométrique d'absorption dans l'ultra-violet est intéressante. Nous ne donnerons les spectres d'absorption que des deux dérivés de la Phénothiazine le plus fréquemment rencontrés : Largactil (fig. 15) et Phénergan (fig. 16).

7°) *Lomidine*.

La Lomidine ou pentamidine utilisée dans la maladie du sommeil comme agent de destruction des trypanosomes dans la circulation périphérique est intervenue dans un des cas que nous avons examiné. Il s'agit d'un homme qui est décédé au

d.o.

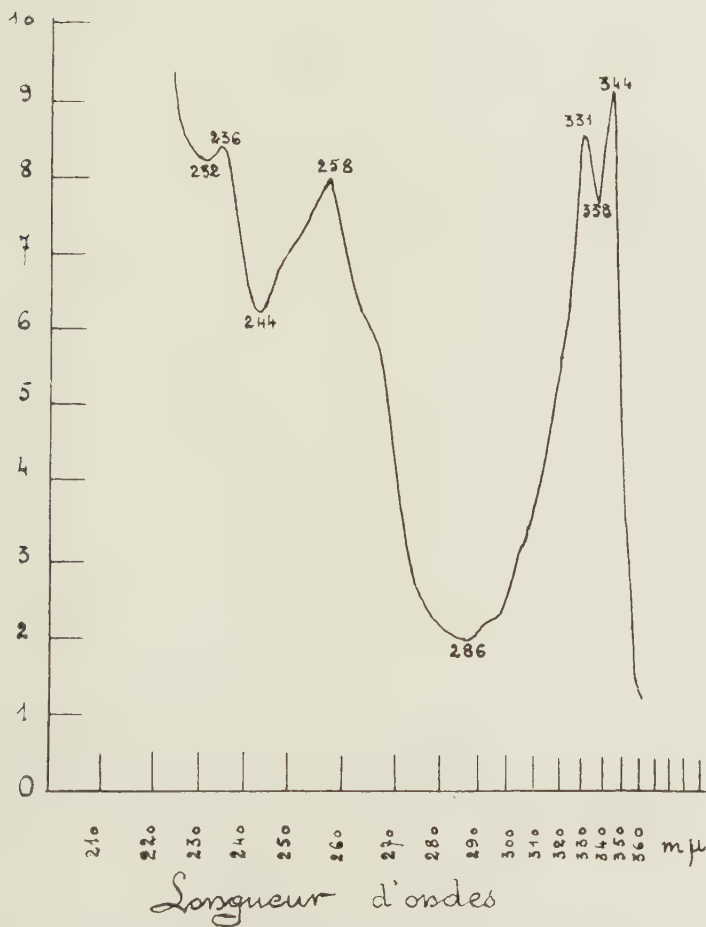


FIG. 14. — Spectre dans l'U.V. d'un extrait de viscères renfermant de la Nivaquine.

cours d'une injection d'une ampoule de 3 ml dosée à 0,12 g de Lomidine. L'ampoule vide, la seringue, l'aiguille, un coton ensanglanté ont été examinés.

L'examen des viscères a montré la présence d'une substance de nature alcaloïdique.

L'examen spectrophotométrique dans l'ultra-violet a révélé pour cette substance un maxima d'absorption à $257\text{ m}\mu$ et un

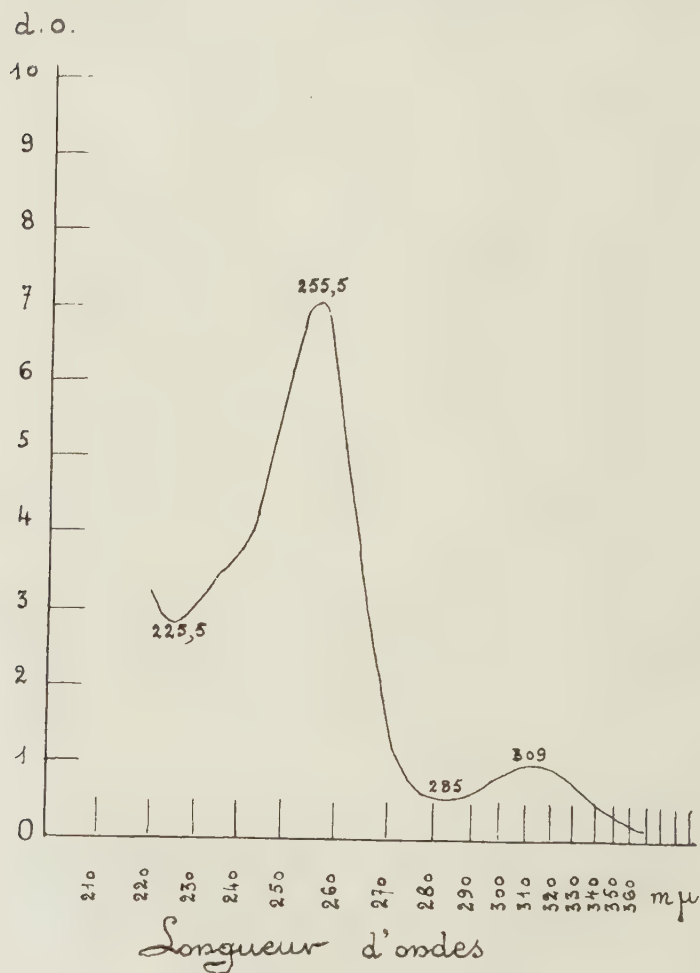


FIG. 15. — Spectre dans l'U.V. du Largactil
chloro-3(diméthylamino-3'-propyl-10 phénothiazine).

minimum d'absorption à $238\text{ m}\mu$; ce spectre doit être comparé à ceux obtenus avec le sang, le coton, la seringue et l'ampoule vide.

Le spectre du sang (fig. 17) possède un maximum d'absorption à 263 $m\mu$ et un minimum à 252 $m\mu$. Pour le coton il est observé un maximum à 263 et un minimum à 238 $m\mu$. Pour la seringue nous notons un maximum à 263 $m\mu$ et un minimum à 231 $m\mu$. Pour l'ampoule vide nous relevons un maximum à 263 $m\mu$ et un minimum à 231 $m\mu$.

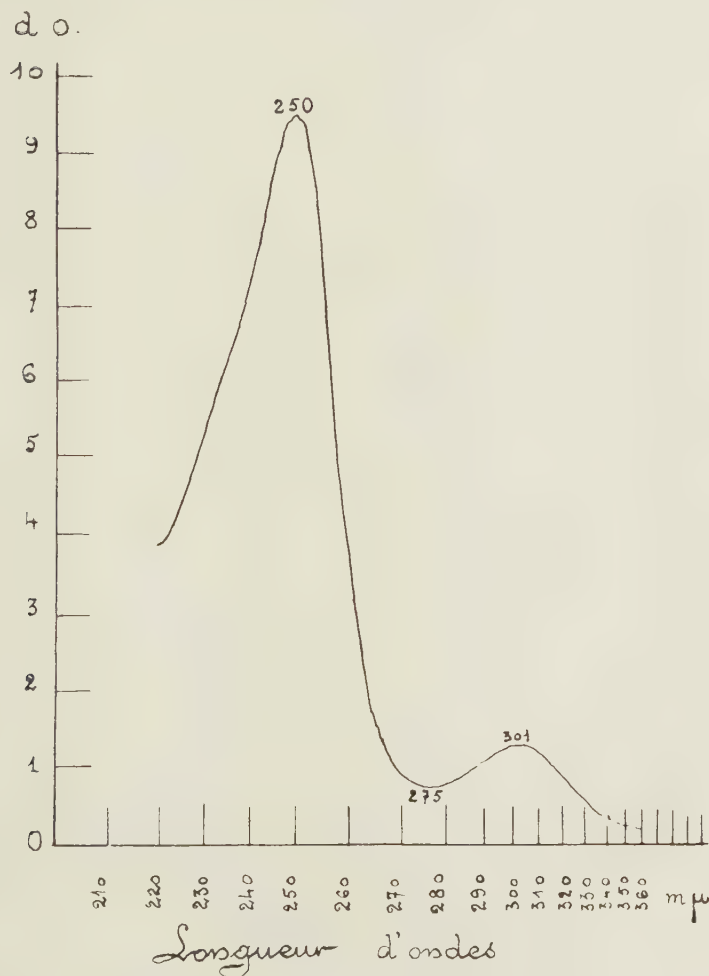


FIG. 16. — Spectre dans l'U.V. du Phénergan ou Prométhiazine : chlorhydrate de (diméthylamino-2' propyl-1')-N phénothiazine.

Ainsi les substances imprégnant la seringue, l'ampoule vide et celle du contenu d'une ampoule d'origine possèdent le même maximum d'absorption 263 $m\mu$ et le même minimum d'absorp-

tion à $231\text{ m}\mu$ (fig. 18). En outre la substance imprégnant le coton ensanglanté a les mêmes caractéristiques spectrophotométriques que la substance extraite des viscères.

Devant ces différences dans les résultats, pour éprouver la stabilité de la Lomidine, nous avons laissé vieillir des traces

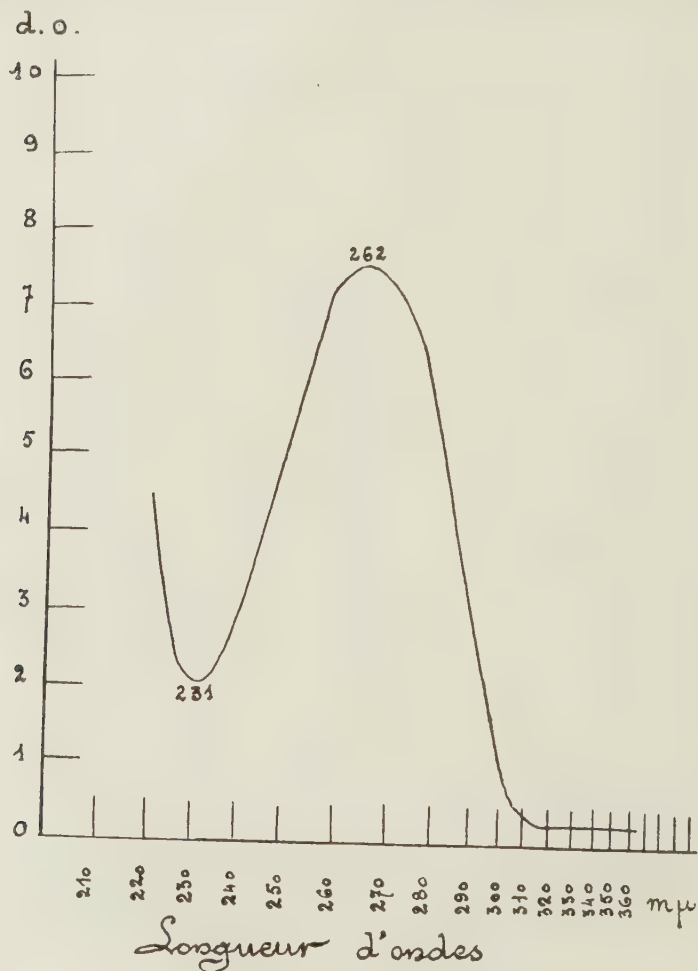


FIG. 17. — Spectre dans l'U.V. de la Lomidine extraite du sang.

de ce produit sur un coton placé à la lumière et à l'air et nous avons reconnu la modification du minimum d'absorption. Il apparaît donc que les substances extraites du sang et des viscères proviennent bien de la Lomidine. Si la Lomidine est un

produit stable pour sa forme de présentation pharmaceutique il n'en est pas de même lorsqu'elle est exposée longtemps à l'air et à la lumière.

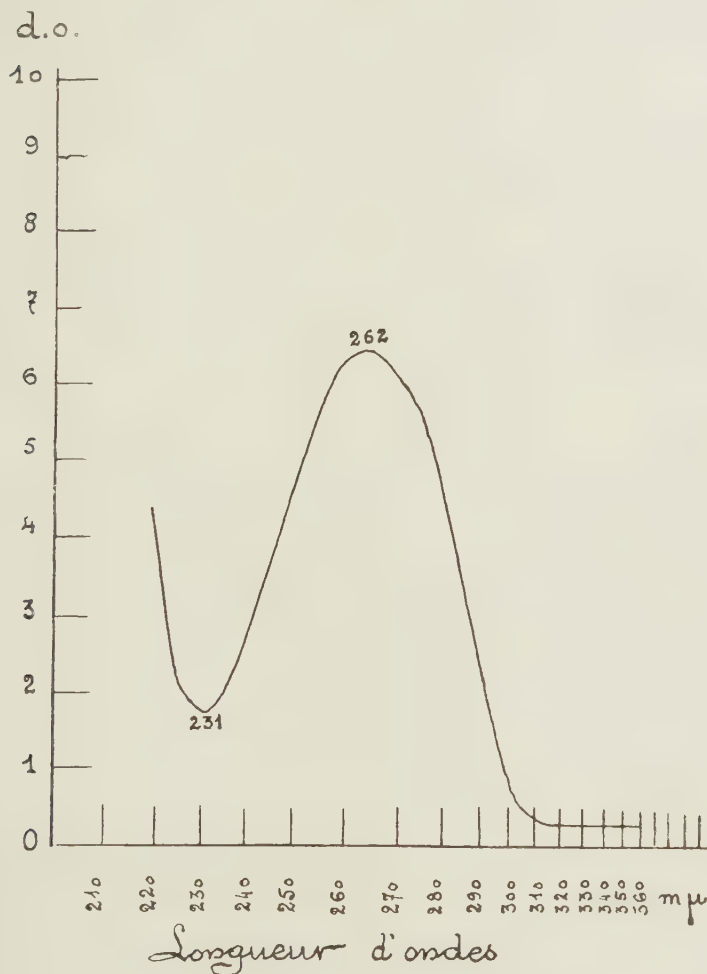


FIG. 18. — Spectre dans l'U.V. de la Lomidine
Bis(amidino-4' phénoxy)-1,5 pentane de f.

Les résultats obtenus sur la substance extraite des viscères montrent que la Lomidine subit des phénomènes métaboliques entraînant des modifications des propriétés d'absorption dans l'ultra-violet.

8°) *Tofranil*.

Sur trois cas de découverte de *Tofranil*, médicament thymo-leptique dans les viscères, l'un au moins était un suicide. La méthode de STAS-OTTO a fourni en milieu alcalin des résidus offrant les réactions de précipitation des alcaloïdes.

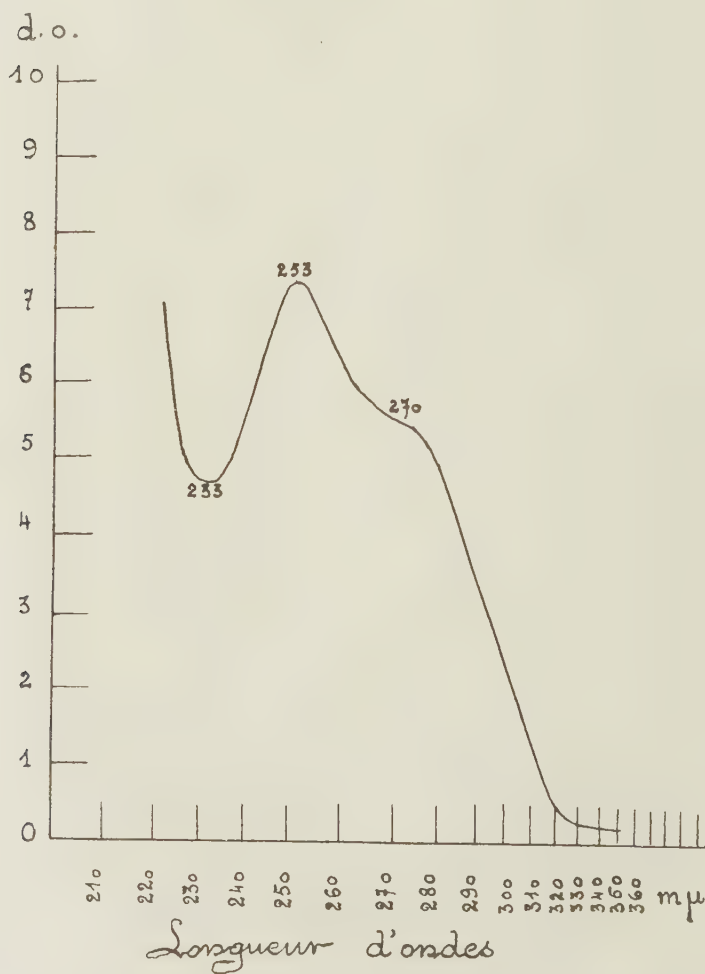


FIG. 19. — Spectre dans l'U.V. du *Tofranil* chlorhydrate de N-(γ diméthylamino-propyl) iminodibenzyle.

Cette substance a donné une coloration bleue très intense sous l'action de l'acide nitrique.

Le traitement par le nitrate de sodium et de la solution chlorhydrique a provoqué une coloration bleu-pétrole intense. La réaction sulfomolybdique a fait apparaître des auréoles bleues. L'action de la solution aqueuse diluée de perchlorure de fer a fait observer une teinte verte.

Toutes ces réactions ont pu être obtenues avec le médicament Tofranil.

L'examen du résidu par la méthode spectrophotométrique d'absorption dans l'ultra-violet a montré des maxima d'absorption à 253 et 270 m μ et un minimum d'absorption à 233 m μ (fig. 19).

Ces trois cas montrent que fort peu de temps après la mise à la disposition du public d'un médicament nouveau, il est observé des cas de suicide, d'ailleurs en rapport dans le cas présent avec les indications de ce médicament : les dépressions.

9°) *Melleril*.

Nous rapportons spécialement cette observation d'intoxication par ce dérivé de la Phénothiazine car il s'agit de l'un de ces nombreux accidents qui surviennent chez les jeunes enfants lors d'un défaut de surveillance. Une fille de 34 mois qui d'ailleurs quelques temps plus tôt avait commencé à absorber du Solivaisselle réussit à dérober et à avaler des comprimés dragéifiés de Melleril qui se trouvaient dans un buffet et dont un flacon a été trouvé vide sur la table par la mère au moment de son retour. L'enfant a indiqué qu'elle avait absorbé ces comprimés mais elle ne se plaignait pas. La mère a essayé de faire vomir l'enfant, mais très rapidement celle-ci est tombée à terre et ses yeux se sont fermés. Admise à l'hôpital dans un état de raideur, malgré une exsanguino-transfusion, une respiration assistée, l'enfant mourait environ six heures plus tard.

Les recherches toxicologiques ont montré la présence d'une substance de nature alcaloïdique qui présentait les réactions suivantes :

- a) coloration violette avec l'acide nitrique ;
- b) coloration bleu-vert passant au violet avec l'acide sulfurique.

Ces réactions colorées sont effectivement données par le Melleril.

Ce médicament est inscrit au tableau C de la Législation sur les substances vénéneuses ce qui montre que son emploi peut être nocif à doses supérieures à la posologie indiquée par le fabricant et notamment chez les enfants. D'ailleurs le prospectus qui accompagne le produit porte la mention : « Très important : ne pas laisser à la portée des enfants les comprimés dragéifiés médicamenteux ».

10°) *Morphine et dérivés.*

Parmi les examens toxicologiques des viscères auxquels nous avons procédé une vingtaine correspondaient à des sujets connus comme morphinomanes mais la preuve n'a pu être apportée que dans 4 cas.

Cet état de chose peut s'expliquer par le fait du défaut total ou partiel de drogues à la phase terminale ou par le métabolisme rapide de la Morphine et de ses dérivés chez les toxicomanes.

En effet une extraction ne comportant pas de difficultés et une très grande sensibilité des réactions d'identification permettent d'espérer la mise en évidence des plus faibles traces.

L'étude de l'Opium, de la Morphine et de ses dérivés fait l'objet du sous-chapitre suivant.

III. — SUBSTANCES STUPÉFIANTES.

Malgré une surveillance rigoureuse il existe un trafic clandestin des stupéfiants relativement important, même si l'on fait exception pour le principal portant sur le Cannabis Sativa interdit pour tous usages. Nous avons examiné de l'Opium à 86 reprises. Dans un nombre de fois à peu près égales, 83, il s'agissait d'Héroïne alors que la Morphine n'apparaissait que dans 24 affaires.

Nous rapporterons les méthodes d'identification employées dans l'examen de ces substances.

1°) *Opium.*

L'Opium, latex épaissi obtenu par incision des capsules encore vertes de plusieurs variétés de papaver somniferum, est constitué par une pâte ferme, homogène ou à grain très fin dont la coloration varie du brun marron clair au brun rou-

geâtre ou noirâtre ; son odeur vireuse spéciale est caractéristique, sa saveur est amère, âcre et tenace. Ces caractères organoleptiques caractéristiques conduisent au processus analytique suivant :

— *examen microscopique* : cet examen est effectué sur un fragment délayé dans une solution concentrée d'hydrate de chloral. Il est observé des granulations brunes de latex agglomérées en petites masses irrégulières.

— *réactions d'identité* :

a) il est procédé à la recherche de l'acide méconique au moyen du perchlorure de fer qui donne avec la macération aqueuse à 10 % de la substance une coloration rouge.

b) la recherche des alcaloïdes est faite à l'aide des réactions générales des alcaloïdes de MAYER-VALSER et de BOUCHARDAT sur une liqueur de macération dans l'acide chlorhydrique au 1/20.

c) la recherche de la Morphine et de ses dérivés est faite au moyen du réactif sulfo-formolé de MARQUIS sur les produits séchés après leur extraction selon la méthode de STAS-OTTO.

d) la recherche de la Morphine est faite au moyen de la polyréaction de GUARINO qui consiste à traiter la solution chlorhydrique d'alcaloïde par l'acide iodique. Il se produit une coloration brune due à la libération d'iode et l'addition de sesquicarbonate d'ammonium renforce cette coloration ; sous l'action du perchlorure de fer très dilué cette coloration devient rouge bordeaux et par acidification à l'acide acétique il est observé une mousse de couleur verte puis une teinte finale verte.

— *déterminations quantitatives* :

a) le dosage de l'humidité est réalisé par maintien d'un gramme de substance à l'étuve à 100° jusqu'à obtention d'un poids constant. Les Opiums officinaux possèdent un taux d'humidité de 15 à 17 %. Les taux d'humidité des substances faisant l'objet du trafic clandestin sont très variables.

b) dosage de la Morphine : ce dosage est réalisé comme l'indique la Pharmacopée, la Morphine étant précipitée par le chlorhydrate d'ammoniaque en présence d'alcool et d'éther. Après dissolution du précipité par l'alcool méthylique le dosage est réalisé par acidimétrie. Le calcul de la teneur en Morphine fait intervenir la teneur en extrait calcique obtenu dans des conditions bien précisées.

La teneur en Morphine des Opiums est variable selon leur origine : 13 à 13,5 % pour l'Opium de Turquie, 15 à 16 % pour l'Opium de Yougoslavie ou de Macédoine, 12 % pour l'Opium d'Iran. Les Opiums clandestins ont des teneurs en Morphine de 10 à 15 % et parfois plus. Il apparaît donc qu'à ce stade la fraude n'est pas encore intervenue.

Les propriétés physiologiques de l'Opium sont recherchées comme nous allons le voir pour la Morphine.

2°) *Morphine.*

Les produits saisis sont représentés par la Morphine base ou ses sels surtout le chlorhydrate ; ces produits pulvérulents sont plus ou moins colorés, traduction d'une purification incomplète. La Morphine est également l'objet d'un trafic sous forme de sels en ampoules injectables.

L'identification est réalisée directement sur les poudres ou sur les produits d'évaporation des solutions des ampoules. Les réactions utilisées sont les suivantes :

- sulfoformolée : coloration violette ;
- acide iodique : coloration jaune ;
- acide sulfomolybdique : coloration violette passant au vert ;
- perchlorure de fer : coloration bleue ;
- polyréaction de GUARINO dans les conditions indiquées pour l'Opium.

Le dosage de la Morphine est réalisé par la méthode pondérale après l'avoir déplacée de ses sels par l'ammoniaque et solubilisée au moyen du chloroforme. Le résidu obtenu est l'objet d'une vérification des constantes physiques et d'essais physiologiques.

Les essais physiologiques sont ainsi réalisés :

a) *essais sur la souris blanche* : l'injection à la souris de quelques milligrammes de substance dissous dans 0,5 ml de soluté isotonique de chlorure de sodium provoque une érection caudale puis une contracture des muscles de la colonne vertébrale faisant apparaître une véritable bosse sur le dos de l'animal ; quelques instants plus tard, la souris présente un certain état de somnolence.

b) *essais de détermination du seuil d'excitabilité électrique du rat blanc* : cet essai est pratiqué sur un rat blanc pesant 80 g et dont on a déterminé le seuil d'excitabilité électrique au

moyen de l'appareil SIVADJIAN. Dans les instants qui suivent on note une élévation du seuil de l'excitabilité électrique en prenant pour test le cri du rat. Pour une dose suffisante après 20 minutes le rat ne crie plus quelle que soit l'intensité du courant qui lui est envoyé dans les pattes.

3°) *Héroïne.*

Le trafic de l'Héroïne ou chlorhydrate de diacéthylmorphine est important surtout en ce qui concerne sa fabrication dans les laboratoires clandestins en vue de l'exportation. Les saisies portent sur des produits pratiquement purs lorsqu'il s'agit de grosses quantités de l'ordre du kilogramme ou plus, mais sur des produits additionnés d'une forte proportion de lactose ou de bicarbonate de sodium pour les quantités vendues au détail.

L'analyse de ces poudres comporte les recherches suivantes :

— *Essais préliminaires* : les produits examinés sont des poudres blanches microcristallines, inodores, de saveur très amère et laissant une anesthésie de la langue, de toucher doux s'il s'agit d'un produit pur. En cas de présence de lactose la poudre est légèrement amère et son toucher rugueux.

La poudre est soluble en totalité dans l'eau et l'alcool s'il s'agit d'Héroïne pure mais seulement partiellement soluble en cas d'addition de lactose.

La calcination sur lame de platine de l'Héroïne ne laisse aucun résidu, de même quand elle est mélangée avec le lactose, mais dans ce cas la substance brûle avec une odeur de caramel. Dans les cas d'addition de bicarbonate de soude il reste un résidu minéral important possédant une réaction fortement alcaline au papier de tournesol mouillé.

Réactions analytiques.

a) réactions de l'halogène.

La solution aqueuse acidifiée par l'acide nitrique fournit un précipité blanc par addition de solution aqueuse de nitrate d'argent. Cette réaction chimique indique la présence d'un halogène. Le précipité est soluble dans l'ammoniaque et l'acidification par l'acide nitrique fait réapparaître un précipité blanc caillebotte qui bleuit à la lumière. Ses caractères sont ceux des chlorures.

b) *recherches générales des alcaloïdes.*

La solution aqueuse légèrement acidifiée par l'acide chlorhydrique fournit des précipités abondants avec les réactifs généraux de précipitation des alcaloïdes : réactifs de MAYER-VALSER, réactif de BOUCHARDAT, réactifs silico-tungstiques.

Identifications d'alcaloïde.

L'identification de l'alcaloïde est réalisée par les réactions suivantes :

- sulfo-formolée : coloration violette ;
- sulfovanadate : coloration violet-rouge ;
- sulfosélénite : réaction négative ;
- acide nitrique : coloration verte à chaud. Cette dernière réaction est pratiquée comme il est indiqué dans les essais de la Pharmacopée ; elle est caractéristique de l'Héroïne.

En outre le chauffage de l'Héroïne avec de l'alcool à 90° et de l'acide sulfurique laisse percevoir une odeur nette d'éther acétique ce qui montre la présence du groupe acétyl dans l'Héroïne.

Réaction de réduction.

La solution aqueuse d'Héroïne chauffée avec la liqueur de Fehling ne montre pas de pouvoir réducteur mais dans le cas de la présence d'un sucre réducteur tel le lactose, le sel cuivrique bleu passe à l'état de sel cuivreux rouge.

Identifications du corps réducteur.

Dans le cas où la réaction précédente a été positive la solution de la poudre chauffée avec de l'acétate de phénylhydrazine fournit après refroidissement des cristaux en forme d'oursins comme se présentent ceux de la lactosazone.

En l'absence de corps réducteurs la détermination du point de fusion pourra fixer l'état de pureté du produit examiné pour l'Héroïne ce point de fusion est pour le sel hydraté de 224 à 226°.

L'état de pureté est également déterminé par la mesure du pouvoir rotatoire en solution aqueuse à 2 grammes de sel anhydre pour 100 ml. La déviation polarimétrique pour dD est de $-148,3^\circ$.

L'ensemble des caractères physiques et chimiques précédemment déterminés montre si la poudre est constituée d'Héroïne pure ou d'un mélange d'Héroïne et de Lactose ou d'un sel minéral.

c) *Essais de la Pharmacopée française.*

1°) Dissolvez 0,50 g de chlorhydrate de diamorphine dans 5 ml d'eau : ajoutez une goutte de solution de chlorure ferrique à 5,2 % : le liquide ne devra pas se colorer en bleu (Morphine).

2°) Placez 0,05 g de chlorhydrate de diamorphine dans une capsule de porcelaine : ajoutez deux gouttes d'acide nitrique officinal. Le sel se dissoudra avec production d'une coloration jaune. Chauffez doucement sur une très petite flamme jusqu'à ce que le liquide commence à verdir. Laissez refroidir : le liquide prendra une teinte verte de plus en plus accentuée, cette teinte se manifestera surtout sur les bords. La Morphine, la Codéthyline et la Codéine ne donnent pas cette réaction.

3°) Desséchez dans le vide phosphorique une prise d'essai voisine de 2 g de chlorhydrate de diamorphine, la perte de poids ne devra pas être supérieure à 4,5 % (eau en excès).

Déterminations quantitatives.

La teneur en Héroïne est déterminée par le dosage volumétrique du chlore, dosage pondéral de l'Héroïne et dosage spectrophotométrique de l'Héroïne.

a) *Détermination du chlore total* : la détermination du chlore total est réalisée par addition ménagée de nitrate d'argent N/100 après neutralisation de l'acidité au moyen du carbonate de calcium et en présence de chromate neutre de potassium comme indicateur. La teneur en chlore total permet de calculer le pourcentage d'Héroïne pure.

b) *Détermination du chlore fixe* : après calcination à 400°, un essai de détermination du chlore fixe est négatif pour l'Héroïne pure.

Les deux dosages de chlore permettent de calculer la quantité d'Héroïne correspondante.

c) *Dosage pondéral de l'Héroïne* : la poudre est lixiviée au moyen de l'alcool à 90° et le résidu pesé. La teneur en Héroïne est ainsi déterminée directement car dans les cas d'addition de lactose ou du bicarbonate de soude ces substances ne sont pas solubles dans l'alcool.

d) *Identification et dosage par la méthode spectrophotométrique* : l'identification et le dosage par la méthode spectrophotométrique d'absorption dans l'ultra-violet sont réalisés par l'observation d'un maximum d'absorption à 279 m μ et un minimum d'absorption entre 253,5 et 255,5 m μ .

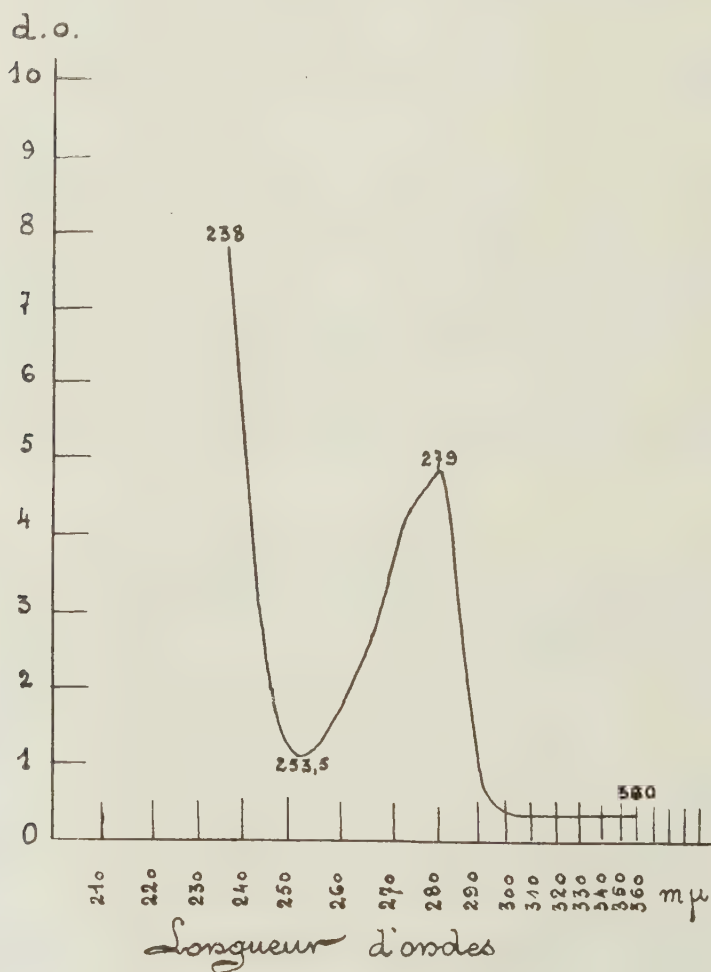


FIG. 20. — Spectre dans l'U.V. de l'Héroïne mélangée à du lactose.

Un tel spectre figure ci-contre (fig. 20) il est quasi semblable à celui de l'Héroïne pure (fig. 21).

Examens physiologiques.

Les propriétés physiologiques de l'Héroïne sont recherchées comme il a été indiqué précédemment pour la Morphine sur la souris et sur le rat blancs.

d. o.

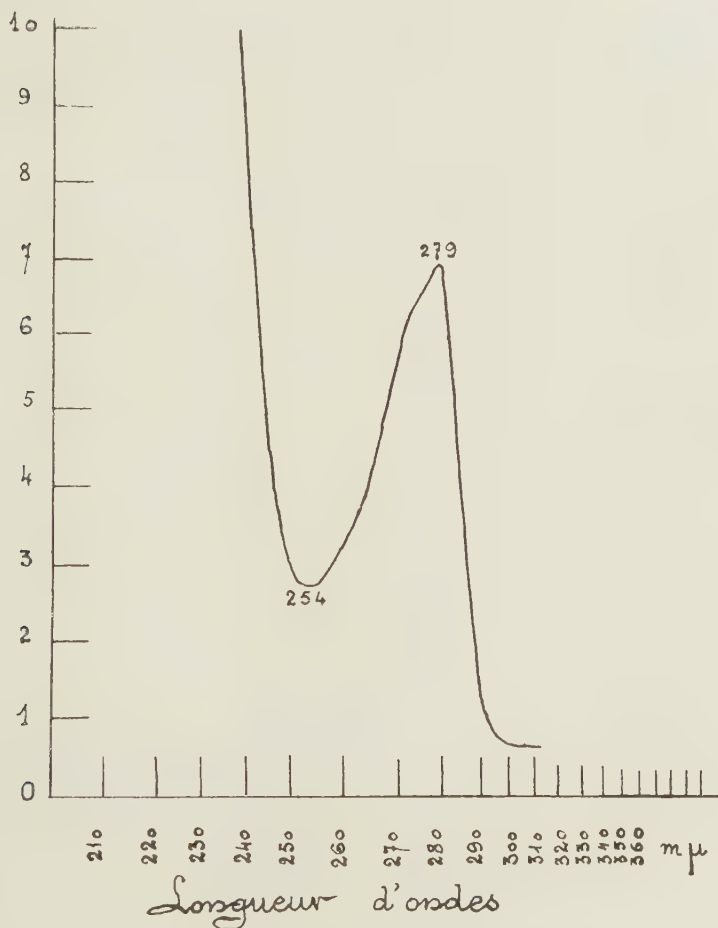


FIG. 21. — Spectre dans l'U.V. de l'Héroïne chlorhydrate de diacétylmorphine.

4°) *Cocaïne.*

La Cocaïne, principal alcaloïde de la feuille de coca, et son chlorhydrate ne donnent lieu actuellement qu'à de très rares affaires de toxicomanie. A l'époque où elle existait sur le mar-

ché clandestin la Cocaïne était introduite dans l'organisme surtout par prises nasales mais également en injections sous-cutanées, intra-musculaires et intra-veineuses. Un petit pri-

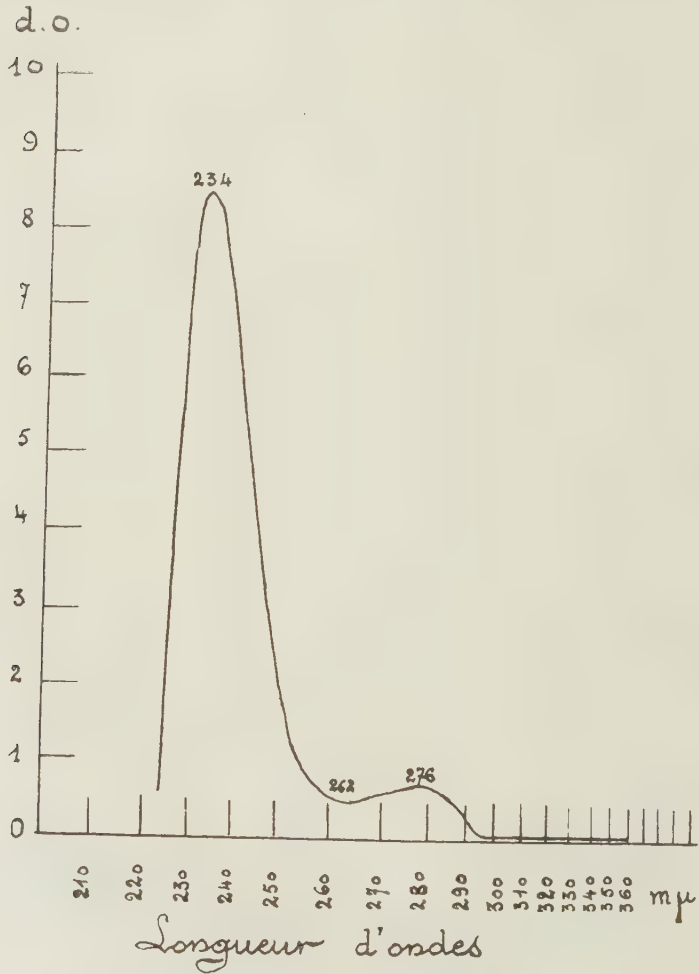


FIG. 22. — Spectre dans l'U.V. de la Stovaïne chlorhydrate de benzoyl-diméthylamino diméthyl-éthylcarbinol.

seur prenait de 3 à 4 prises par jour, soit une dose quotidienne d'un gramme de Cocaïne alors qu'un intoxiqué grave utilisait au moins 5 grammes, l'obtention de telles quantités, compte-

tenu du prix, ne paraît pas facilement réalisable. Les affaires soumises comme Cocaïne sont la plupart du temps des tromperies par produits de remplacement comme les anesthésiques locaux : Stovaïne, Tutocaïne, etc...

L'identification de ces substances se fait par leurs réactions chimiques mais surtout par l'examen spectrophotométrique dans l'ultra-violet. A titre indicatif nous présentons le spectre d'absorption de la Stovaïne caractérisé par des maxima d'absorption à 234 et 276 $m\mu$ et un minimum d'absorption à 262 $m\mu$ (fig. 22).

CONCLUSIONS.

Nous nous sommes proposée dans le présent travail d'étudier le problème si important pour le thérapeute du diagnostic rapide des poisons organiques dans les milieux biologiques. organes et certaines préparations, en envisageant successivement leurs méthodes principales d'extraction et d'identification.

L'ancienne méthode d'extraction de STAS-OTTO, à la base de toutes les recherches sur ce sujet, reste, avec ses variantes comme celle de CHERAMY, LOBO, la mieux adaptée à la séparation de toutes les substances organiques des viscères. Cependant cette méthode d'exécution laborieuse entraîne inévitablement des modifications structurales des produits recherchés par suite du chauffage prolongé en milieu acide avec de l'alcool ou de l'acétone.

Pour les milieux biologiques la méthode de lixiviation par un solvant convenable après dessiccation au moyen du sulfate de sodium anhydre est préférable car elle réduit au minimum les causes d'altération du produit organique recherché, tout en assurant généralement d'emblée un état de pureté suffisant pour permettre la caractérisation. De plus la méthode de lixiviation présente l'avantage de la rapidité de son exécution, une demi-heure, facteur essentiel pour la mise en œuvre d'un traitement approprié. La méthode d'entraînement par distillation à la vapeur d'eau est recommandable dans des cas particuliers : nicotine, dérivés organo-phosphorés, dérivés halogénés des carbures.

Les méthodes d'identification des poisons organiques à employer en l'absence de renseignements sont, d'une façon générale et dans l'ordre, les méthodes spectrophotométriques, chromatographiques, électrophorétiques, polarographiques et de détermination du point de fusion qui ne consomment pratiquement pas de substance dont il n'est obtenu le plus souvent qu'une très petite quantité.

Les méthodes classiques doivent être ensuite mises en œuvre dans la mesure du possible : réactions de précipitation, microcristalloscopie, réactions colorées, essais physiologiques ; sur organes isolés ou petits animaux.

L'affirmation de l'identité d'une substance nécessite la concordance d'au moins deux résultats obtenus avec des méthodes aussi différentes que possible.

Sur ces principes nous avons étudié quatre cent vingt-cinq cas d'empoisonnement certain concernant des vivants et des cadavres, ainsi que cent quatre-vingt-quinze préparations diverses renfermant des substances stupéfiantes.

Pour les sujets vivants, nous avons retenu des exemples types montrant la possibilité d'un diagnostic rapide capable d'entraîner une sanction thérapeutique (Maxiton, Nicotine, Antipyrine) le cas des dérivés barbituriques, qui reste l'intoxication la plus fréquente, ayant été étudié en détail dans les deux premiers chapitres.

Pour les cadavres, nous avons présenté une gamme étendue d'intoxications provoquées par des substances organiques volatiles et fixes se rapportant à 28 rubriques.

Par ordre d'importance les principales intoxications observées se classent ainsi :

Dérivés de l'acide barbiturique	(255)
Strychnine et sels	(33)
Composés organo-phosphorés	(18)
Nivaquine	(15)
Dérivés de la Phénothiazine	(13)
Quinine et sels	(12)
Dérivés sulfamidés	(9)
Digitaline	(6)

Au cours de ces dernières années les intoxications sont devenues plus variées avec l'utilisation de nouveaux pesticides et avec l'introduction en thérapeutique des médications antihistaminiques, tranquillisantes, neuroplegiques et neuroleptiques.

Ces pesticides et médicaments nouveaux produits par la chimie organique de synthèse ne possédant pas en général de réactions chimiques caractéristiques nécessitent pour leur identification la mise en œuvre des méthodes physiques modernes qui permettent dans beaucoup de cas un diagnostic rapide et sûr.

Nous avons montré l'intérêt de la spectrophotométrie d'absorption dans l'ultra-violet pour de nombreux corps en particulier pour le Parathion si difficile à mettre en évidence par les anciennes méthodes.

Ainsi les nouveaux problèmes posés au toxicologue peuvent trouver leur solution dans l'extension de l'emploi des méthodes physiques qui sont en général sensibles et spécifiques d'une fonction ou d'un groupement déterminé.

BIBLIOGRAPHIE

- BIANCALINI G. (4). — Diagnostica e tecnica di laboratorio, 1931, **2**, 19.
- BOBIER (185). — *Bull. Soc. Chim.*, 1936, n° 77, 74.
- BODENDORF (5, 181). — Über den toxikologischen Nachweis von Barbitusäure derivaten. *Arch. de Pharm.*, 1932, **270**, 290.
- BOUGAULT J. et GUILLOU J. (150). — *C. R. Soc. Biol.*, 1931, **193**, 463.
- BRODE W. R. (135). — *Chemical Spectroscopy* New-York, 1943. John Wiley et Sons, Inc.
- BRODIE B. B., AXELROD J., SOBERMANN R. et LEVY B. B. (143). — *J. Biol. Chem.*, 1949, **179**, 25.
- BRODIE B. B., UNDEFRIEND S. et BAER J. E. (137). — *J. Biol. Chem.*, 1947, **168**, 299.
- BRUNDAGE J. T. et GRUBER Ch. (10, 72, 103). — The determination of barbiturates in blood and urine by a new method. *J. Pharm. Exp. Ther.*, 1937, **59**, 379.
- CARLESS J. E. et WOODHEAD H. B. (130). — *Nature*, 1951, **168**, 203.
- CHARONNAT et LACHAUX (8, 52, 192). — *J. P. C.*, 1936, **23**, 473.
- CHERAMY P. et LAGARCE (87). — *J. P. C.*, 1930, **12**, 366.
- CHERAMY et LOBO (65, 89). — *J. P. C.*, 1934, **20**, 400.
- DAVIDOW B. et WOODARD G. (142). — *J. Ass. Off. Agr. Chem.*, 1949, **32**, 751.
- DENIGES G. (148). — *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 1928, **67**, 165.
- DERKOSCH J., JANSCH H., LEUTNER and MAYER (145). — *F. X. Monatsch. Chem.*, 1954, **85**, 684.
- DEROBERT, LE BRETON et MARTIN (131). — *Ann. Méd. Lég.*, 1952, **32**, n° 6, 381-384.
- DESODT (38, 59, 70, 81, 99, 197). — Les barbituriques, leur toxicologie. Thèse Pharmacie, Nancy, 1932.
- DILLE (184, 190). — *J. Pharm. Exp. Ther.*, 1934, **52**, 129.
- DUGOURT (119). — Thèse Pharmacie, Lille, 1928.
- EDER R. et HAAS W. (121). — *Microchemic Ernich. Testschrift.*, (121), 1903.
- EHRISMANN O. et JOACHIMOGLU G. (118). — *Bischem Zeitsch*, 1928, **199**, 272.
- EKKERT C. (157). — *Pharm. Zeitung*, Nov. 1926.
- EKKERT L. (168). — *Pharm. Zentralhalle*, 1926, **67**, 481.
- FABRE R. (13, 28, 25, 55, 64, 76, 90, 96, 106, 124). — *J. P. C.*, 1922, **26**, 241 ; *J. P. C.*, 1933, **18**, 417 ; *J. P. C.*, 1938, **27**, 467.
- FISCHER R. (57, 74, 107). — *Pharm. Monatsch.*, 1927, **8**, 195 ; *Arch. de Pharm.*, 1932, **270**, 149.
- FISCHER R. et KOFER A. (50, 108, 122). — *Arch. Pharm.*, 1932, **270**, 207 ; *Arch. de Pharm.*, 1932, **270**, 153 ; *B. S. C.*, 1953, **54**, 705.
- FISCHER R. S., ALGERI E. J. et WALKER J. T. (141). — *J. Biol. Chem.*, 1949, **179**, 71.

- FISCHER et VON MERING (1). — *Thérapie dev Gegenwart Pasc.*, 3, 1944, **45**, 145.
- FLANDIN Ch., JOLY F. et BERNARD J. (58, 62). — L'intoxication par les somnifères. G. Doin éditeur à Paris, 1934.
- FLEURY (17, 43, 159, 164). — *J. P. C.*, 1925, **2**, 465.
- FLEURY et GUINNEBAULT (53). — *C. R. Soc. Biol.*, 1925, **93**, 1508.
- FLORENCE (66, 91, 97). — *Bull. Soc. Chim.*, 1927, **41**, 1097 et 1242.
- FOUCHET (20, 32, 172). — *J. P. C.*, 1944, **20**, 403.
- FRANZ et EHRLICH. — Munich, *Med. Wochenschr.*, 1915, 559.
- FRERICHS G. et H. (110). — *Arch. de Pharm.*, 1906, **44**, 86.
- GENOT (155). — *Journ. de Pharm. de Belgique*, 1925, **7**, 513 ; 1926, **8**, 33.
- GETTLER A. O., UMBERGER C. J. et GOLDBAUM L. R. (144). — *Anal. Chem.*, 1950, **22**, 600.
- GOLDBAUM L. R. (201). — *Analytical Chem.*, 1952, **24**, 1604-1607.
- GOMEZ N. (133). — *An. Soc. Esp. Fis. Quin.*, 1931, **29**, 280 ; *B. S. C.*, 1931, **50**, 1532.
- GOULD T. C. et HINE C. H. (140). — *J. Lab. et Chim. Med.*, 1949, **34**, 1462.
- GRIFFON H. et LE BRETON R. (56, 78, 79, 83, 98, 104, 200). — *J. P. C.*, 1938, **28**, 49 ; *C. R. Soc. biol.*, 1939, **130**, 337 ; *Ann. Pharm. Fr.*, Juillet-Août 1947, n° 7.
- GUILLOU (151). — Thèse Doct. Pharm., Paris, 1932.
- HANDORF H. — *Zg. Ges. Exp. Med.*, 1922, **28**, 56.
- HARGREAVES G. W. et NIXON H. W. (128, 176). — *J. Am. Ph. Assoc.*, 1933, **22**, 1250.
- HELD M. (109). — *Pharm. Zeit.*, 1904, 911.
- HERWICK (73, 93, 191). — The determination of barbituric-acid derivatives in urine and tissues. *Arch. inter. de pharm.*, 1923, **45**, 160.
- HEYROVSKY (132). — *Polarographie. Chem. Listy*, 1922, **16**, 256.
- ISNARD (149). — *J. P. C.*, 1924, **29**, 272.
- JAILER J. W. et GOLDBAUM L. R. (139). — *J. Lab. et Chim. Med.*, 1946, **31**, 1344.
- JONES M. et THATCHER R. L. (136). — *Anal. Chem.*, 1951, **23**, 957.
- JONSSON M. B. (173). — *Svensk. farm. tidskrift.*, 1931, **35**, 659 ; *J. P. C.*, 1933, **17**, 523.
- JORISSEN A. (162). — *J. P. C.*, 1911, **3**, 478.
- JOSEPHSON E. S., UNDEFRIEND S. et BRODIE B. B. (138). — *J. Biol. Chem.*, 1947, **168**, 341.
- KAISER H. (123). — *Süddentsche Apoth. Zeitg.*, 1932, 71.
- KEESER E. et KEESER I. (117). — *Arch. Exp. Path. U. Pharmakal.*, 1927, **125**, 251 ; 1926, **127**, 230.
- KEMPF (47, 112). — *Journ. Finv. prakt. Chemic Nene Folge*, 1908, **78**, 201.
- KLEIN G. et WEINER O. (116). — *Zeitschr. Physiol. Chem.*, 1925, **143**, 143.
- KLINGENFUSS et REINERT (22, 30). — Dosage quantitatif des acides diallylbarbituriques dans l'urine. *Arch. Exp. pathol. Pharmacol.*, 1932, **165**, 416.
- KOHN-ABREST (44, 63, 85). — Précis de Toxicologie. G. Doin éditeur, Paris, 1934.

- KONIG P. — Résumé 3^e congrès Sud. Amer. Chimica, 1937, **2**, 334.
- KOPPANYI T., DILLE J. M., MURPHY W. et KROP S. (71, 94, 101). — Studies on barbiturates. *J. Am. Ph. Assoc.*, 1934, **23**, 1074.
- KOPPANYI, MURPHY et KROP (24, 69, 100, 183, 189, 199). — Studies barbiturates. *Arch. int. pharmacodyn.*, 1933, **46**, 76.
- KOZELKA et TATUM (187, 193). — *J. Pharm. Exp. Ther.*, 1937, **59**, 54-62.
- KUNH A. (6, 36, 51). — *Dent. Z. ges. gericht. Med.*, fasc. 13, 1929, **115**, 23.
- LACHAUX Maurice (126, 186, 195). — Thèse Pharmacie, Paris, 1958. Contribution à l'étude des éliminations urinaires par la méthode du relargage.
- LAGARCE (37, 80, 86, 120, 158). — Contribution à la toxicologie des dérivés barbituriques. Thèse pharmacie, Paris, 1930, p. 60. *J. P. C.*, 1930, **12**, 364.
- LAMI P. et HANDORF H. (163). — *Boll. Chem. Farm.*, 1914, **53**, 193.
- LEMAIRE P. — *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, Février 1909.
- LEVI et FARMILO C. G. (105). — *Canad. J. Chim.*, 1952, **30**, 793.
- LINDBERGER (167). — *Hygtea*, 1925, **87**, 258 et 316.
- LOBO (46, 54, 77, 82, 88, 92, 156). — Thèse Pharmacie, Paris, 1934.
- LUCAS H. — *J. Pharm.*, 1914, **93**, 424.
- LUNEGAR, DILLE et KOPPANYI (26). — *J. Am. Ph. Assoc.*, 1935, **24**, 847.
- LYONS E. et DOSC A. W. (127). — *J. Am. Chem. Soc.*, 1929, **51**, 288.
- MACADIE W. (12, 111). — *Pharm. J.*, 1912, **20**, 134. *The Pharm. Journ. a. Pharm.*, 1912, **90**, 134.
- MANCINI M. — *Rend. d-ad. monze delle. Acad. med. Fis. Fiorentina sperimentale*, 1923, **77**, 178.
- MELLON M. G. — *Analytical Absorption Spectroscopy*. New-York, 1950. John et Sons, Inc.
- MIHALOVITS. — *Pharm. Zentralhalle*, fasc. 75, 1934, **14**, 226.
- MOHRSCULZ. — *Münch Med. Woch.*, 1934, **81**, 672.
- MOLLE B. et KLEITS H. (15, 27, 31, 34). — *Arch. de Pharm.*, 1904, **242**, 401.
- MORVILLEZ et DUFOURT (113). — *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 1928, **66**, 254.
- MUNIER R. et MACHEBOEUF M. (129). — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1950, **32**, 192.
- MYERS et WARDELL (102). — *J. Biol. Chem.*, 1918, **36**, 147.
- OGIER et KOHN-ABREST (11, 84). — *Traité de Chimie toxicologique*. G. Doin éditeur, Paris, 1924.
- PACET (2). — Identification chimique de l'intoxication barbiturique. *Bulletin des biologistes pharmaciens*, 1937, **39**, 464.
- PAGET M. et DESODT Ch. (25, 174, 182, 198). — *J. P. C.*, 1933, **18**, 207.
- PAGET M., DESODT Ch. et TILLY F. — Identification chimique de l'intoxication barbiturique. *Bulletin des biologistes pharmaciens*, 1937, **39**, 464.
- PARRI W. (179). — *Boll. Chim. Farm.*, 1924, **63**, 401.
- PESEZ (178, 188, 194). — *J. P. C.*, 1938, **28**, 69.
- PUCHER G. W. (18, 49). — *Bull. buffalo. Gen. Hosp.*, 1925, **3**, 70.
- RANVEZ F. (154). — *Journ. de Pharm. de Belgique*, 1924, **6**, 410 et 501.

- RISING M. M. et JOHNSON C. A. (169). — *J. Biol. Chem.*, 1928, **30**, 709.
ROMANOVA N. V. (170). — *Arch. Pharm.*, 1929, **267**, 370.
RUPP E. et MULLER K. (165). — *Arch. Pharm.*, 1926, **264**, 362.
SACK G. (21, 42). — *Arch. f. exper. path. et pharmacol.*, 1936, **183**, 71.
SENSI G. (3, 45, 75, 95). — *Ann. Chim. Applicata*, 1926, **16**, 510 ; *Annali di chimica applicata*, 1927, **17**, 447.
SHOULE H., KELTSCH A., KEMPG et SWANSON (25). — *J. Pharm. Exp. Ther.*, 1933, **49**, 393.
SORISSEN A. — *J. P. C.*, 1911, **3**, 478.
STRZYGOWSKI (23, 68). — *Schweiz. Med. Wochenscher.*, 1932, **62**, 186.
STRZYGOWSKI C. et DEVERIN L. (153). — *Helv. Chim. Acta*, 1933, **16**, 1288.
TAGLIARINI (160). — *Boll. Chim. Farm.*, 1906, **45**, 105.
TARDIEU (61). — Thèse pharmacie, Paris, 1924.
TILLY (60, 175). — Les barbituriques, leur identification, leur toxicologie, étude expérimentale. Douriez, Bataille, éditeur, Lille, 1937. Thèse Pharmacie, Paris, 1937.
TUNMANN O. (48, 115, 146). — *J. P. C.*, 1918, **17**, 375 ; d'après *Apoth. Zeit.*, 1917, **32**, 289.
VAN ITALIE et STEENHAUSER (16, 39, 152). — *Pharm. Weekblad*, 1921, **58**, 1063 ; *Pharm. Weekblad*, 1930, **67**, 797.
VAN ITALIE et VAN DER VEEN (147). — *Pharm. Weekblad*, 1919, **56**, 1112.
VAN LEENT (177). — *Pharm. Weekblad*, 1936, **73**, 873-898.
VAN RIJN (19, 41). — *Pharm. Weekblad*, 1928, **65**, 1030.
VENTUROLI G. — *Apoth. Zeit.*, 1914, **29**, 250.
VITTE G. (67). — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1930, **524**, 31 ; *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 1932, **70**, 255 ; *Bull. Soc. pharm. Bordeaux*, 1931, **69**, 279.
VON KLOBUSITSKY D. et KONIG P. — *Arch. exp. path. Pharmacol.*, 1939, **192**, 271. Biochemische Studien über die Gifte der Schlängengattung Bothrops.
WAGENAAR (114). — *Z. Anal. Chem.*, 1929, **79**, 44.
ZAMPARO A. (166). — *Bull. Chim. Farm.*, 1925, **64**, 257.
ZWIKKER (33, 171, 180, 196). — Het tantsonen en het afzonderen van barbitaben by het toxicologisch anderzoch. *Pharmac. acentisch Weekblad*, 1931, **68**, 975.
-

TABLE DES MATIÈRES.

	Pages
INTRODUCTION	11

CHAPITRE I.

Méthodes d'extraction des poisons organiques.

1) Méthodes qualitatives d'extraction de l'urine.....	15
2) Méthodes qualitatives d'extraction du sang.....	25
3) Méthodes quantitatives d'extraction de l'urine.....	31
a) Cas de l'urine fraîche	31
b) Cas de l'urine putréfiée	34
4) Méthodes quantitatives d'extraction des tissus	39
a) Cas des organes	39
b) Cas du sang	52

CHAPITRE II.

Méthodes d'identification des traces de substances organiques.

I. — Méthodes physiques	55
1°) Point de fusion	55
2°) Sublimation	55
3°) Chromatographie sur colonnes de poudres inertes, sur papier	56
4°) Electrophorèse	57
5°) Polarographie	57
6°) Spectrophotométrie ultra-violette	58
7°) Spectrophotométrie infra-rouge	62
II. — Méthodes physio-chimiques (microcristallographie)	62
III. — Méthodes chimiques	63
1°) Réactions de précipitation	63
2°) Réactions colorées	65
— Travail de W. PARRI.....	65
— Modifications apportées à la réaction de W. PARRI	66

— Etude des caractères de la réaction de	
W. PARRI	68
. Spécificité	68
. Sensibilité	69
. Intensité	69

CHAPITRE III.

Cas d'intoxications par substances organiques.

I. — Cas d'intoxications étudiés chez des sujets vivants.	74
1°) Maxiton	74
2°) Nicotine	74
3°) Antipyrine	78
II. — Cas d'intoxications étudiés sur des cadavres.....	80
A. Poisons entraînés par la vapeur d'eau.....	80
1°) Hexachlorocyclohexane	80
2°) Dérivés organo-phosphorés	81
3°) Dinitrocrésol	86
4°) Apiol	88
B. Poisons retrouvés dans « l'éther acide » de la méthode STAS-OTTO	88
1°) Dérivés de l'acide barbiturique	89
2°) Chloralose	90
3°) Phényl-1-amino-2-propane	90
4°) Doridène	91
5°) Acide acétylsalicylique	92
6°) Acide salicylique	92
7°) Salicylate basique d'aluminium.....	92
8°) Dérivés sulfamidés	94
9°) Digitaline	94
10°) Cantharidine	95
11°) Colchicine	96
12°) Coumarines	96
13°) Aldrine	98
14°) N°Oblivon	99
C. Poisons retrouvés dans « l'éther et le chloroforme alcalins » de la méthode STAS-OTTO.....	99
1°) Substances de nature alcaloïdique non identifiées	99
2°) Nicotine	100
3°) Strychnine	103
4°) Quinine	104

	Pages
5°) Nivaquine	105
6°) Phénothiazines	106
7°) Lomidine	109
8°) Tofranil	114
9°) Melleril	115
10°) Morphine	116
III. — Substances stupéfiantes	116
1°) Opium	116
2°) Morphine	118
3°) Héroïne	119
4°) Cocaïne	123
CHAPITRE IV.	
CONCLUSIONS	126
BIBLIOGRAPHIE	129

Vu, le Président de Thèse :
Professeur R. PIEDELIÈVRE.

Vu, le Doyen de la Faculté :
Professeur L. BINET.

Vu
et Permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
JEAN SARRAILH.

Achevé d'imprimer le 30 octobre 1961.

M. DECLUME, imprimeur, Lons-le-Saunier 871-61-355.
Octobre 1961 « Dépôt légal 4^e trimestre 1961 — N° 5236 ».

